



## Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

## Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

## Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.































# **ZENTRALBLATT**

für

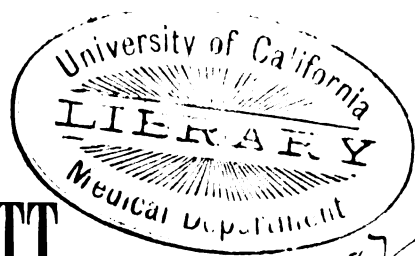
**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

---

**Zweite Abteilung. III. Band.**







**ZENTRALBLATT**  
für

**Bakteriologie, Parasitenkunde  
und Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung.**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie  
und Pflanzenpathologie.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft,  
Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern,  
Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin,  
Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in  
Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent  
Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in  
Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

**Dr. Oscar Uhlworm in Cassel.**

**III. Band.**

Mit 11 Tafeln und 26 Abbildungen im Texte.

**J e n a ,**

**Verlag von Gustav Fischer.**

1897.

THE  
JOHN

Digitized by Google

# **ZENTRALBLATT** für **Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

## **Zweite Abteilung: Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Wilsarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 27. Januar 1897.**

**No. 1.**

---

**Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.**

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

### **Original - Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

#### **Emulsions- und Sedimentfiguren bei beweglichen Bakterien.**

Von

**M. W. Beijerinck**  
in Delft.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

##### **1. Erzeugung und Natur der Figuren.**

Die meisten beweglichen Bakterien haben die folgende Eigenschaft: In dünnen Schichten ihrer Nährlösungen reichlich angehäuft

Zweite Abt. III. Bd.

1

2901



bilden sie, beim ruhigen Stehen, im Verlaufe einiger Minuten eigentümliche Ansammlungen.

Diese bestehen entweder aus säulen- oder leistenförmigen, quer durch die Dicke der Flüssigkeit (von oben nach unten) verlaufenden, oder plattenförmigen, zu Boden liegenden scharf begrenzten Gruppen, welche voneinander durch eine bakterienarme oder bakterienfreie Flüssigkeit getrennt sind.

Die leisten- und säulenförmigen Ansammlungen will ich als Emulsionsfiguren, die plattenförmigen als Sedimentfiguren bezeichnen; prinzipiell handelt es sich dabei jedoch um identische Verhältnisse. Eine genaue Untersuchung lehrt nämlich, daß Säulchen und Leisten in den Emulsionsfiguren schon bald nach ihrer Entstehung eine breite Basis besitzen (vergl. den Holzschnitt), welche sich allmählich vergrößert durch Herabsinken der Bakterien aus den Säulchen, derweise, daß letztere schließlich gänzlich verschwinden und die Sedimentfiguren sozusagen Limite der Emulsionsfiguren werden. Unter Umständen kann dieses Herabsinken jedoch viele Stunden auf sich warten lassen. Die Entfernung zwischen den Spitzen zweier benachbarten Säulchen beträgt ca.  $\frac{3}{4}$ —1 mm, kann jedoch bis zu 2 mm und mehr steigen. Zwischen den Sedimentplatten ist die Entfernung gewöhnlich kleiner. Je mehr Bakterien, desto kleiner alle Dimensionen.

Die Emulsionsfiguren entstehen am besten in etwas dickflüssigen Medien, z. B. in verflüssigten Gelatinekulturen, die Sedimentfiguren leichter in dünnen Nährlösungen, wie Fleischbouillon, doch spielen hierbei die spezifischen Eigenschaften der Bakterien eine Hauptrolle, und es giebt Arten, welche auch in Wasser kaum anderes als Säulchen und Leisten erzeugen. So erhielt ich bei *Bacillus punctatus*, *B. perlibratus*, *Photobacterium Indicum* vorzugsweise Sedimentfiguren, bei *Bact. Zopfii* nichts anderes wie Emulsionsfiguren, bei *Bacterium Termo* beide gleich leicht.

Nicht alle beweglichen Bakterien sind für die Erzeugung der Emulsionsfiguren gleich gut geeignet. Zwar spielen dabei Dauer und Intensität der Beweglichkeit, wie unten noch näher angegeben werden wird, eine Hauptrolle, jedoch kommen dabei auch Artmerkmale auf eine mir bisher nicht ganz klare Weise zum Ausdruck. So konnte ich mit *Bacillus pyocyaneus* viel schönere Figuren erhalten, wie mit ebenso stark beweglichen Varietäten von *B. fluorescens liquefaciens* und *B. fl. non liquefaciens*. Cholera verhielt sich wie letztere Arten. Jedoch sind in allen diesen Fällen die Figuren kräftig genug entwickelt, um damit die unten zu nennenden Versuche auszuführen. Dagegen war es mir nicht möglich, bei *B. cyanogenus* überhaupt Emulsionsfiguren zu erhalten.

Für die Beobachtung der Emulsions- und Sedimentfiguren müssen die Schichten in Glasdosen mit gut geebnetem Boden gegossen und auf einen dunkelschwarzen Tisch gestellt bei günstiger Beleuchtung betrachtet werden. Der Entstehungsmodus der Figuren ist nicht mit unbewaffnetem Auge zu verfolgen, sondern erfordert eine 6- bis 10fach vergrößernde Lupe; obschon die dabei stattfindenden Vorgänge interessant sind, muß ich es unterlassen, hier alle Details zu besprechen. Für die Herstellung in chemotaktischer und osmotischer

Hinsicht recht empfindlicher Figuren können nur sehr aktive Bakterien, d. h. junge, kräftig wachsende Kulturen verwendet werden, worin nur wenige sich nicht bewegend Individuen vorkommen. Die letzteren fallen inert zu Boden und trüben die Schönheit der Versuche. Bei den verflüssigenden Arten erhielt ich sehr empfindliche Emulsionsfiguren einfach durch Ausgießen der teilweise verflüssigten Kultur aus dem Reagentienröhrchen in eine flache Schale, vermischt oder nicht vermischt mit ein wenig Fleischbouillon, um der Schicht die nötige Dicke zu geben.

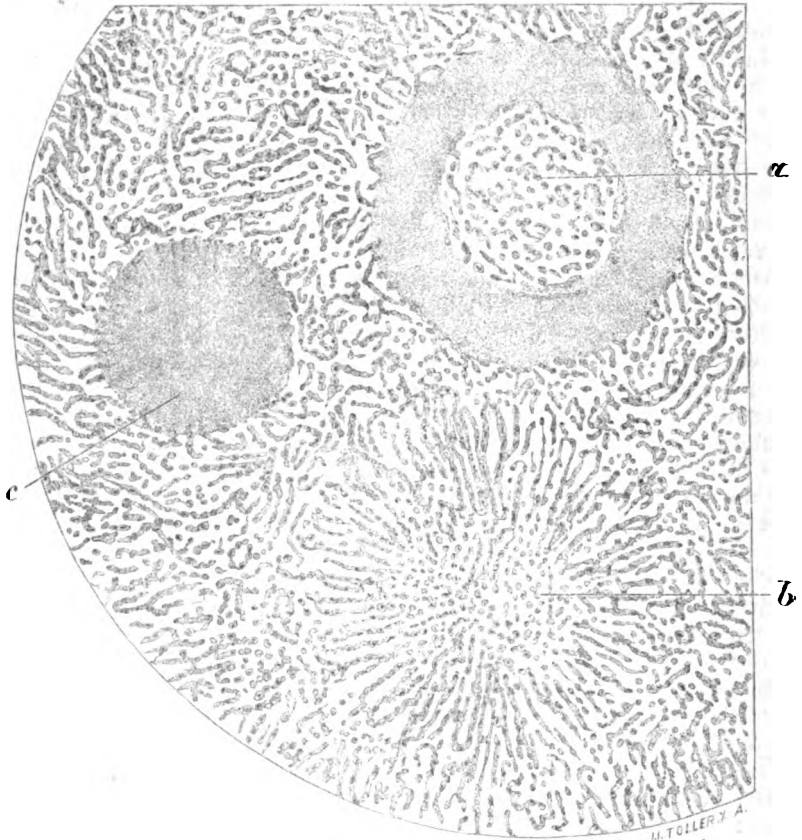
Junges Agarmaterial, welches für Versuche über Beweglichkeit und so auch für die Figurenbildung besonders empfehlenswert ist, bringt man in Wasser oder in Bouillon aufgerührt in die Glasschale. Solche Bouilloninfuse läßt man dann zunächst mehrere Stunden ruhig stehen, wobei in der dünnen Schicht ein kräftiges Wachstum stattfindet. Bei den verflüssigenden Leuchtbakterien soll Fischbouillon mit 3-proz. Kochsalz- oder Meereswasser zum Vermischen verwendet werden.

Die Schichten sollen nicht dicker wie 1 bis 2 mm sein, weil die Erscheinung in dickeren Schichten ihre Schärfe einbüßt. Sind die Schichten jedoch nur ca.  $\frac{1}{2}$  mm dick oder noch dünner, so bilden sich die Figuren nicht. Bei guter Versuchsanstellung sind die Figuren sehr scharf gezeichnet, besonders bei den wenig durchsichtigen Bakterien wie *Bacterium Termo*, weil hierbei die Ansammlungen mit trüblich-weißer Farbe gut kontrastieren zur schwarzen Farbe des Tisches, den man durch die Zwischenräume sieht. Die mehr durchsichtigen Arten, wie *Bacillus perlibratus* und *Bacterium Zopfii* sind schwieriger zu beobachten, dennoch für Versuche sehr geeignet. Am besten sind die Figuren mit einer großen, ca. zehnfach vergrößernden Lupe zu betrachten.

Schüttelt man die Flüssigkeit, so verschwindet die Emulsionsfigur plötzlich, um sich jedoch nach einer oder ein paar Minuten wieder zu bilden, und dieses Spiel kann man tagelang wiederholen; da jedoch nur die beweglichen Bakterien bei der Figurenbildung beteiligt sind und viele bewegungslos zu Boden sinken, geht die Schönheit der Erscheinung allmählich verloren, weil die Zwischenräume sich dann nach dem Umschütteln nicht mehr klären.

Die Erklärung der Erscheinung glaube ich wie folgt geben zu müssen: Die Emulsionsfiguren entstehen durch lokale Strömungen; in den Zwischenräumen steigt die mit Kohlensäure gesättigte Flüssigkeit nach oben, in den Säulchen fällt die mit Sauerstoff gesättigte Nährlösung nach unten. Eine schwache Verdunstung und kräftige Atmung müssen der Erscheinung deshalb förderlich sein, und tatsächlich wirkt eine mäßige Erwärmung günstig. Läßt man ein Deckglas auf der Flüssigkeit treiben, so entsteht, wie zu erwarten war, die Emulsionsfigur darunter nicht, wenn Sauerstoffbedürfnis schon eintritt, bevor die Figur sich hat ausbilden können. Einmal gebildet und dann mit dem Deckglas überdeckt, kann sie sich aber auffallend lange halten, jedoch nur dann, wenn sie als Sedimentfigur zu Boden liegt; die aktiveren stäbchenförmigen Emulsionen verfließen unter dem Deckglas bald, doch verschwindet schließlich die Sedimentfigur eben-

falls vollständig. Daß meine eben gegebene Erklärung richtig ist, glaube ich daraus ableiten zu müssen, daß es möglich ist, mit gewissen unbeweglichen Mikroben Emulsionsfiguren zu erzeugen, welche denjenigen der beweglichen Bakterien ähnlich sind, wenn nur beachtet wird, daß die Mikroben nahezu dasselbe spezifische Gewicht wie die Nährlösung besitzen und kräftig atmen müssen. Diese beiden Eigen-



Genauere Zeichnung eines Lanternbildes einer Photographie ( $1\frac{1}{2}$  mal vergrößert). *a* Chemotaktisches Feld durch Glukose mit in der Mitte angehäuften Bakterien, welche eine sekundäre Emulsionsfigur erzeugt haben, *b* Strömungsfeld durch Kochsalz, *c*) Verdünnungsfeld mit gleichmäßig verteilten Bakterien durch Wassertropfen.

schaften fand ich vereinigt in ziemlich konzentrierter Würze, welche mit Bierhefe in lebhaft Gärung versetzt wird. Wird die dünne Schicht nach dem Umschütteln in der Glasdose mit der Hand erwärmt und dann ruhig sich selbst überlassen, so sammeln die Hefezellen sich in kleinen Flecken an, welche allmählich zu Boden sinkend sich zu fünf-, sechs- und siebeneckigen Figuren abplatteln, die voneinander durch hefefreie Würze getrennt sind. Dabei bemerkt man, daß die

Kohlensäurebläschen eben in den Zwischenräumen frei kommen, ja oft zu Boden der Glasdosen zu polyëdrischen, den Zwischenräumen der Hefeflecke entsprechenden Figuren adhärirt bleiben. In diesem Falle ist es deshalb sicher, daß die sauerstoffhaltige Flüssigkeit oberhalb der Hefefelder nach unten sinkt. Die Felderung hält sich in der sedimentierten Hefe nur kurze Zeit und zu weiteren Versuchen konnte sie mir keine Veranlassung geben. Trotz vieler Versuche ist es mir noch nicht gelungen, leblose Körper zu finden, welche zur Bildung von Emulsionsfiguren, die mit denjenigen der beweglichen Bakterien vergleichbar sind, Veranlassung geben.

Wie man aus dieser Beschreibung bemerkt, sehe ich in meinen Emulsionsfiguren zunächst den Ausdruck physikalischer Verhältnisse. Daß die beweglichen Bakterien so eminent befähigt sind zu deren Erzeugung, beruht, wenigstens zum Teil, wohl auf der Natur ihrer Körperoberfläche, speziell auf der Gegenwart der Cilien, jedoch auch auf ihrer spezifischen Schwere, welche wenig von derjenigen ihrer Nährlösung verschieden ist; vielleicht auch noch auf anderen, mehr physikalischen Eigenschaften. Jedoch glaube ich annehmen zu müssen, daß besonders ihr Sauerstoffbedürfnis bei der Entstehung und Erhaltung der Emulsionsfigur beteiligt ist, und daß die Säulchen oder Platten als Atmungsfiguren<sup>1)</sup> aufgefaßt werden müssen, d. h. daß die Säulchen bei *Bacterium Termo* z. B., dessen Atmungsfigur zum *Aërobientypus* gehört, diejenigen Stellen bezeichnen, wo die Bakterien den meisten gelösten Sauerstoff vorfinden. Daß der Sauerstoff dabei eine Hauptrolle spielt, geht schon daraus hervor, daß unter einem Deckglas, welches auf der Flüssigkeit treibt, wenn es nur früh genug aufgelegt ist, wie gesagt, keine Emulsionsfiguren entstehen, offenbar, weil die Bakterien dann eben aus Sauerstoffbedürfnis nicht zur Ruhe kommen.

Sollte es gelingen, Emulsionsfiguren mit anaëroben Bakterien zu erzeugen, so wird darauf vielleicht noch mehr Licht fallen; bisher ist mir das jedoch nicht gelungen, obschon ich eben gegenwärtig eine mit *Oedematis maligni* verwandte Art kultiviere, welche für solche Versuche ganz geeignet erscheint.

Aus der Litteratur sind mir keine Beschreibungen bekannt geworden, welche ganz auf meine Emulsionsfiguren anwendbar sind. Nur die von Julius Sachs unter dem gleichen Namen beschriebenen Anordnungsfiguren der Zoosporen von Grünalgen haben damit einige Aehnlichkeit<sup>2)</sup>. Sachs zeigt, daß die Gruppierungen der Zoosporen, welche sich an der Oberfläche des Wassers ausbilden, also ganz anders wie die Bakterienfiguren, durch Wärmeströmungen bedingt werden<sup>3)</sup> und sehr schön nachgeahmt werden können mit einer Emulsion von mit Alkanna rot gefärbtem Baumöl in einem Gemische von Alkohol und Wasser von gleichem spezifischen Gewicht. Mehr als eine entfernte Aehnlichkeit liegt hier jedoch nicht vor, und daß

1) Centralblatt für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XIV. 1893. p. 327.

2) Flora 1876. p. 262 und Gesammelte Abhandlungen über Pflanzenphysiologie, Bd. 1. p. 145.

3) Dieser Erklärung ist zwar widersprochen (Berthold, Protoplasmamechanik. 1886. p. 113), doch halte ich dieselbe für richtig.

ich mich dennoch entschloß, den gleichen Namen für meine Figuren anzuwenden, war besonders deshalb, weil ich dadurch Nachdruck legen wollte auf die wichtige Rolle, welche physikalische Strömungen in der Flüssigkeit nach meiner Ansicht auch bei den Bakterienemulsionen spielen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Der Salpeterpilz.

Von

A. Stutzer und R. Hartleb.

### I. Rückblicke.

Für die Landwirtschaft bildet die Aufklärung über die Biologie und Physiologie des Salpeter erzeugenden Organismus eine wichtige Aufgabe. Alle Kulturpflanzen, mit Ausnahme der Leguminosen, decken ihren Bedarf an Stickstoff wahrscheinlich nur aus dem Salpeter, mit welchem man den Boden düngt, oder demjenigen, welcher durch die Wirkung bestimmter Organismen aus gewissen stickstoffhaltigen Materialien des Bodens erzeugt wird. Kennen wir die Biologie und die Physiologie des salpeterbildenden Organismus genauer, so wird der Landwirt im Boden vielleicht größere Mengen von Salpeter als bisher erzeugen, bessere Ernten erzielen und von der Einfuhr des teuren Chilisalpeters unabhängig werden können.

Als feststehend müssen wir annehmen, daß die Oxydation der Stickstoffverbindungen zu Salpeter im Boden nur durch die Vermittlung von Mikroorganismen erfolgt. Um deren biologische Eigenschaften zu studieren, ist es nötig, daß man sie in „Reinzucht“ beobachtet. Die Erzielung solcher Reinzuchten hat bisher den Forschern ganz außerordentliche Schwierigkeiten gemacht, was um so befremdlicher ist, weil die Salpeterbildung, soweit die diesbezügliche Wirkung der betreffenden Mikroorganismen in Betracht kommt, in jedem Kulturboden in mehr oder minder erheblichem Maße nachgewiesen werden kann. Dieser Umstand ließ es wahrscheinlich erscheinen, daß die Methoden zur Erforschung der Biologie des Salpeterbildners bisher mit Mängeln behaftet sind, und haben wir diese Annahme durch unsere neuen Beobachtungen bestätigt gefunden.

Bevor wir auf unsere eigenen Versuche näher eingehen, ist es nötig, den augenblicklichen Stand der Forschungsergebnisse, namentlich hinsichtlich der Methoden zur Reinzucht des Nitratbildners zu besprechen.

Er kommen hier fast ausschließlich die Arbeiten von S. Winogradsky in Betracht, welcher sehr viele Mühe aufgewendet hat, um Klarheit über die Nitratbildner zu schaffen. Die Arbeiten dieses Forschers sind seit dem Jahre 1890 vorzugsweise in den Annales de l'Institut Pasteur niedergelegt, und verweisen wir auf die Referate hierüber in Bd. I. dieses Centralbl. p. 21, 80, 243. W. spricht immer wieder von den ungeheuren Schwierigkeiten, welche die Trennung der

Nitrifikationsorganismen von anderen indifferenten Mikroorganismen ihm bereiteten<sup>1)</sup>. Winogradsky unterschied einen Nitritbildner, welcher aus großen Kokken besteht und schwefelsaures Ammoniak zu Nitrit oxydierte, und einen viel langsamer wirkenden Nitratbildner. Letzterer bildet kleine Stäbchen und beginnt die Umwandlung des Nitrits zu Nitrat erst dann, wenn sämtliches Ammoniak zu Nitrit oxydiert ist. Bei den Versuchen diente zunächst eine sehr dünne Lösung von Ammonsulfat, mit Zugabe der nötigen Mineralsalze und von wenig Magnesiumkarbonat.

Zur Isolierung der betreffenden Organismen und zu ihrer Trennung von fremden Begleitern mußten selbstverständlich Plattenkulturen gemacht werden. Indes erwiesen sich, sagt Winogradsky, „alle bekannten gelatinierenden Substanzen pflanzlicher und tierischer Herkunft als absolut ungeeignet“<sup>2)</sup>.

„Führte man in die Gelatine in gewöhnlicher Weise eine Unmasse von Nitrobakterien und wenig fremde Organismen ein, so bildeten nur letztere Kolonien; die ersteren bildeten keine und kamen gar nicht mehr zum Vorschein.“ W. suchte nun nach einem festen Nährsubstrat mineralischen Ursprungs und wendete Kieselgallerte nach der Methode von Kühne an. Es gelang ihm jetzt, zu Reinkulturen zu kommen.

Bei den Arbeiten, welche in der landwirtschaftlichen Versuchstation zu Bonn über die Nitratbildner ausgeführt sind, haben wir uns bis vor kurzer Zeit ausschließlich in dem Fahrwasser von Winogradsky bewegt, und dessen Angaben, daß die betreffenden Organismen auf gelatinierenden Substanzen pflanzlicher oder tierischer Herkunft absolut nicht gedeihen, zunächst als unzweifelhaft richtig angenommen und demgemäß mit Kieselgallerte die Plattenkulturen angelegt. Die Herstellung dieser Platten machte außerordentliche Schwierigkeiten. Beim Eindunsten der wässerigen Lösung von Kieselsäure erfolgt sehr häufig eine frühzeitige flockige Ausscheidung der letzteren, während in anderen Fällen die Lösung der Kieselsäure nach dem Ausgießen in Petrischalen kaum zum Erstarren zu bringen ist. Auch in sonstiger Beziehung hat dieser Nährboden keine günstigen Eigenschaften. Der Nitratbildner wächst auf demselben außerordentlich langsam und werden die Kolonien von anderen, schneller wachsenden Bakterien leichter als auf irgend einem anderen Nährboden überwuchert.

W. urteilt über die Eigenschaften des Kieselsäurenährbodens in neuerer Zeit, wie folgt<sup>3)</sup>: „Bakteriologen, welche ausschließlich mit relativ gut auf Gelatine wachsenden Arten zu thun haben, machen sich keine klare Vorstellung von den Schwierigkeiten, welchen man bei der Isolierung und besonders bei der Beurteilung der Reinheit der Kulturen in unserem Falle begegnet. Die nitrifizierenden und die sie begleitenden Bakterien bestehen aus äußerst kleinen, unscheinbaren, einander sehr ähnlichen Formen. Zweitens sind auch die Kolonien der Nitrifikationsmikroben auf festen Substraten äußerst

1) Siehe auch dieses Centralbl. 1896. p. 421, 422.

2) Winogradsky, Ueber die Organismen der Nitrifikation. (Vierteljahrsschrift der Naturf. Gesellsch. in Zürich. XXXVI. 1891. Heft 2. p. 176.)

3) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. II. p. 421.

klein und wachsen außerordentlich langsam, bis zu einer mit der Lupe eben sichtbaren Größe. Das Wachstum der verunreinigenden Arten ist gewöhnlich unbedeutend, aber insofern sehr störend, daß sie meistens äußerst dünne, manchmal nur als etwas trübe Flecken sichtbare Auflagerungen bilden, die fast die ganze Oberfläche bedecken. Die unangenehmste Eigenschaft der Kieselgallerte, die Wasserabgabe, ist schwer mit Sicherheit zu verhüten, obgleich manchmal unbedeutend, kann sie doch bei mehrwöchentlichem Stehen der Platten dieselben ganz unbrauchbar machen, wobei das Schlimmste ist, daß man diese Unbrauchbarkeit wegen der überall spärlich zerstreuten verunreinigenden Arten erst nach sehr sorgfältiger Untersuchung mit stärkeren Vergrößerungen erkennt. Und nun vollends, hat man bei den besten Bedingungen abgeimpft und Nitrifikation in mineralischer Lösung erzielt, so steht man weiter vor der Frage, wo findet man jetzt das Kriterium, um zu unterscheiden, ob die Kultur wirklich rein ist oder noch fremde Mikroben enthält? Mikroskopische Untersuchung, so sorgfältig sie sein mag, giebt keinen sicheren Aufschluß.“ — Man sieht, die Kritik, welche W. an dem von ihm für die Züchtung von Nitratbakterien in Vorschlag gebrachten Kieselsäurenährboden jetzt ausübt, ist eine nahezu vernichtende. Wir können alle diese Schwierigkeiten, welche wir während zweijähriger Arbeiten mit diesem Nährboden erfahren haben, in vollem Maße und mit dem Zusatze bestätigen, daß die von uns zufällig benutzte Erde, aus der der Nitratbacillus isoliert werden sollte, in besonders reichlichem Maße die erwähnten, flach sich ausbreitenden „fremden“ Kolonien enthielt und somit dem Reinigungsverfahren besonders große Schwierigkeiten bereitete, und vielleicht größere Schwierigkeiten, als Winogradsky bei den von ihm benutzten Erdarten zu überwinden hatte.

Während W. früher alle gelatinierenden Substanzen pflanzlicher und tierischer Herkunft als völlig unbrauchbar für den vorliegenden Zweck erklärt hatte, machte er in neuerer Zeit entgegengesetzte Erfahrungen und schlägt vor, eine Gallerte unter Anwendung von Agar zu benutzen.

Winogradsky<sup>1)</sup> schreibt: „Mit diesem Substrate habe ich so gleich unerwartet günstige Resultate erzielt und ein Medium, wie es für das betreffende Bacterium kaum passender sein kann, gefunden.“ Wir können diesem Ausspruche beipflichten und bedauern lebhaft, daß W. alle gelatinierenden Substanzen pflanzlichen Ursprungs früher mit so großem Nachdrucke als völlig unbrauchbar verwarf, daß wir zunächst gar keinen Versuch mit solchen Nährböden machten und zu der sehr minderwertigen Kieselgallerte griffen.

Will man den Salpeterbildner, welcher Nitrit in Nitrat umwandelt, in reinster Form züchten, so ist Agargallerte unter Zugabe von Nitritsalz durchaus zu empfehlen. Die Kieselgallerte dürfte für die Rein-zucht von Nitrifikationsorganismen ein für allemal als beseitigt gelten können.

Wir kommen nun zur Besprechung eines Artikels von S. Winogradsky<sup>2)</sup>, in welchem dieser Forscher in sehr schroffer Weise über

1) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. II. p. 425.

2) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. II. p. 415.

Arbeiten sich äußert, welche bezüglich der Nitratbildner in unserer Versuchsstation ausgeführt wurden und die im Bd. I. p. 721 veröffentlicht sind.

Zunächst ist Winogradsky darüber erstaunt, daß es uns Schwierigkeiten machte, auf der Kieselgallerte den Nitratbildner zu finden, trotzdem er hier lebhaft oxydationsarbeit geleistet hatte.

Wir bemerken hierzu: Nach den Angaben von W. hatten wir wässrige Nährlösungen mit Erde geimpft. Als das zugefügte Nitrit wiederholt verschwunden war, legten wir Tochterkulturen an, und als auch diese gut oxydierten und der von W. beschriebene Nitratbildner in reichlicher Menge mikroskopisch neben anderen Formen sicher nachweisbar war, machten wir Uebertragungen auf Kieselensäureplatten. Hier entwickelten sich eine Anzahl verschiedenartiger Kolonien, welche teils Stäbchen, teils Kokken von mannigfaltiger Größe enthielten. Die Nitrifizierung des Nährbodens trat erst dann ein, wenn die Kolonien ein gewisses Alter erreicht hatten. Das aus der Kieselgallerte sich ausscheidende Wasser bewirkte, auch bei dünner Besäung der Platten, eine weite Verbreitung gewisser Kolonien über einen so großen Teil der Oberfläche des festen Nährbodens, daß stets eine Verunreinigung des Nitratbildners durch andere Kolonien eintrat. Nach einjährigen Bemühungen wollten wir die erfolglosen Reinzuchtversuche aufgeben, machten indes noch einen Trennungsversuch in flüssigem Nährboden unter Anwendung größerer Mengen von Soda.

Diese Kulturen benutzten wir dann zur Impfung der Kieselgallerte<sup>1)</sup>. Die Soda hatte zweifellos günstig gewirkt. Auf den Platten erschienen nur noch einige Arten von Kolonien, welche auf Kieselgallerte weiter gezüchtet wurden, und befand sich unter diesen der Nitratbildner, welchen wir näher beschrieben haben. Wenn Winogradsky bei seinen früheren Versuchen auf der Kieselgallerte schneller zu einer Reinzucht gelangte, so kann dies dadurch bedingt sein, daß die von ihm benutzte Erde eine geringere Anzahl anderer, nicht nitrifizierender Arten von Organismen enthielt. Uns hat die Reinzucht auf Kieselgallerte unendliche Schwierigkeiten gemacht. Die eigene abfällige Kritik Winogradsky's über die Brauchbarkeit dieses Nährbodens ist vorhin bereits erwähnt. (Fortsetzung folgt.)

---

1) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. I. p. 730.



## Bacteriosi del gelso.

[Lavori e Relazioni della R. Stazione di Patologia Vegetale presso il Museo Agrario di Roma.]

Ricerche

del

**Dott. Vittorio Peglion,**

Assistente nella R. Stazione di Patologia vegetale di Roma.

Nella primavera del 1895, trovandomi presso la Scuola Provinciale di Agricoltura di Quinto Valpantena (Verona) ebbi agio di studiare succintamente una speciale alterazione della foglia e dei getti del gelso, che, sulle prime, sembrava causata dal *Septogloeum Mori* Br. e Cav., ma che un accurato esame dei sintomi macroscopici più salienti, mi fece vedere ben distinta dalla fersa o seccume. Non tardai infatti a convincermi di aver che fare con quella speciale malattia delle foglie studiata fin dal 1890 nel Veronese, dal Prof. Cuboni, malattia che secondo le ricerche fatte da questo Autore in collaborazione col Prof. Garbini (1) è causata da uno speciale microorganismo batteriaceo (*Diplococcus*); questo microorganismo isolato coi soliti processi di cultura, riprodusse la malattia sopra foglie sane e venne dagli autori ritenuto molto affine se non identico allo *Streptococcus bombycis* Flügge, che si considerava quale bacillo specifico della flaccidezza dei bachi. Infatti i bachi nutriti con foglia di gelso inquinata con diplococchi presi da colture pure, morirono entro tre giorni con i caratteri distintivi della flaccidezza.

Posteriormente a questa comunicazione, i Signori Boyer et Lambert (2) hanno segnalato la presenza in Francia di due nuove malattie del gelso una delle quali causata da un bacterio, che essi designano sotto il nome di *Bacterium Mori*. Questa malattia che fu osservata sulle piantine di gelso nei vivai interessa la foglia ed i getti, ed è stata riprodotta dagli autori colla semina del bacterio su piante sane. Gli Autori stessi nella breve nota presentata all'Accademia delle Scienze, non accennano menomamente agli studi anteriori dei Prof. Cuboni e Garbini, sebbene risulti a prima vista una grande analogia di caratteri fra il microorganismo da questi Autori riferito al genere *Diplococcus* e quello che Boyer e Lambert hanno denominato *Bacterium Mori*. Però la malattia sviluppatasi nel Veronese fu osservata soltanto sulle foglie, mentre il *Bacterium Mori* fu rinvenuto sulle foglie e nelle ulcerazioni dei getti.

Altri autori si sono occupati, in Italia di questa malattia, in vista della accennata correlazione fra questa e la flaccidezza dei bachi. Già Pasteur (3), nelle sue ricerche classiche sopra le malattie dei bachi da seta, sosteneva che la flaccidezza si può sperimentalmente riprodurre nei bachi, nutrendoli con foglia di gelso fermentata, carica di vibrioni, e Ferry de la Bellone (4) asseriva fin dal 1878

di aver riprodotto la stessa malattia colla iniezione per via anale di una goccia di acqua in cui abbiano fermentato delle foglie di gelso. Recentemente si è occupato a lungo di tali studi il Macchiati, che ha potuto stabilire che, sebbene il bacillo parassita del gelso eserciti un'azione patogena assai manifesta verso i bachi, pure esso è ben distinto dallo *Streptococcus bombycis*.

Il Voglino (5) che ha pur studiato la bacteriosi del gelso, ha constatato una indubbia azione patogena del bacillo del gelso verso i bachi: il modo di presentarsi del male in questi è molto affine a quello della flaccidezza. Però la memoria pubblicata da Voglino fa sorgere molti dubbi specialmente circa la specie del bacillo, da lui isolato, i cui caratteri non coincidono con quelli che vennero attribuiti al parassita del gelso da tutti gli Autori che se ne sono occupati e che ho potuto confermare con queste mie ricerche.

Mi resta da segnalare una breve nota inserita nel Resoconto del Laboratorio Crittogamico di Pavia (6) circa una speciale malattia del gelso, verificatasi in quel di Como. Piantine di gelso di un vivaio presentavano ampie ulcerazioni nel fusto, aggrinzimento ed accartocciamento delle foglie. Il Cavaia ha isolato da queste parti ammalate due forme di microorganismi batteriacei, il cui potere patogeno non potè essere però dimostrato.

Allo scopo di stabilire se la malattia descritta da Boyer et Lambert corrispondeva a quella che venne studiata anteriormente dai vari autori italiani suddetti, e se il bacillo parassita del gelso sia eziandio parassita dei bachi, fui incaricato dal Prof. Cuboni di continuare lo studio già intrapreso e mi recai a Quinto Valpantena appena il Dott. Marozzi, Direttore della Scuola Agraria, informò dell'apparsa del male.

\* \* \*

Credo opportuno riportare i caratteri con cui la malattia si appalesa sui gelsi onde risulti meglio la differenza che corre tra questa e le altre malattie già note.

A Quinto Valpantena la malattia si è osservata su piantine da vivaio venute da seme, su gelsi allevati a siepi basse e sopra piante di alto fusto. È naturale che nelle prime, cioè nelle piantine di un anno o due, la malattia riesca assai dannosa; parecchie piante sono disseccate ed altre sono molto mal ridotte. Sulle piante ad alto fusto invece, i danni sono molto minori e si limitano all'accartocciamento delle foglie apicali e disseccamento dell'apice di alcuni getti.

Le prime tracce del male si osservano sulle foglie: in alcuni punti irregolarmente situati nel parenchima si osserva una leggiera decolorazione, molto evidente qualora si guardino le foglie per trasparenza. In quei punti avviene poi un sollecito imbrunimento, per cui si originano delle macchioline a contorno irregolare, ben distinte dalle macchie che caratterizzano la fersa perchè costantemente più piccole, di colore più oscuro e prive di quella orlatura rosso-brunastra che si osserva nelle macchie di fersa.

Ben spesso queste macchie interessano le nervature: le foglie

allora s'increspano, si raggrinzano e si lacerano, riducendosi spesso a brandelli.

Anche nelle macchie che occupano il parenchima avvengono costantemente delle perforazioni susseguenti al disseccamento e distacco dei tessuti necrotizzati.

I germogli presentano anch'essi alterazioni molto profonde: essi si mostrano generalmente coperti da ulceretti ovali, dapprima sporgenti e di color bruno-chiaro, che poscia si avvallano nella parte centrale assumendo una colorazione più oscura. L'avvallamento delle ulcere è seguito da lacerazioni del tessuto epidermico le quali mostrano i sottostanti tessuti corrosi talvolta fino al midollo. Quando l'ulcerazione interessa la regione apicale del getto essa arresta lo sviluppo del getto istesso; se siano attaccati invece i primi internodi apicali, ore i tessuti sono appena differenziati e molto teneri, l'alterazione si propaga sotto forma di strisce lunghe talora 3—4 cm di color nero, carbonaceo, che inducono l'incurvatura del getto quando esse occupino una sola parte della periferia, ma che possono estendersi alla periferia intera nel qual caso l'estremità del getto avvizzisce e cade.

Nelle ulcerazioni poco estese, avviene spesso una cicatrizzazione completa: ciononpertanto è sempre agevole riconoscere nell'anno seguente la zona già occupata dall'ulcera. Ivi la corteccia del gelso non è liscia ma ricoperta da squamette brune, e sezionando trasversalmente il getto in corrispondenza di essa, si vedono anche ad occhio nudo tracce di alterazioni nella massa del corpo legnoso.

\* \* \*

Collocando in camera umida le foglie ed i getti ammalati dopo 10—12 ore di soggiorno, in corrispondenza delle zone malate si osserva una leggiera intumescenza e più tardi delle piccole sferuline gelatinose, ialine dapprima e poscia giallognole. All'esame microscopico esse si risolvono in zooglee pure di bacilli; questi si coltivano molto agevolmente negli ordinarii substrati, mostrandosi marcatamente aerobii. Seminandoli in gelatina nelle scatole di Petri, dopo 36 ore dalla semina compaiono le tracce delle colonie sotto forma di piccoli punti bianchi, che ingrandiscono sollecitamente dando origine a colonie ialine, emisferiche, sporgenti alla superficie della gelatina e che assumono in breve una colorazione giallognola. Dopo 4 giorni dalla semina, attorno alle colonie, la gelatina è fluidificata, senza però che in essa si diffondano i bacilli.

Nelle colture per infissione in gelatina, il bacillo si sviluppa rapidamente alla superficie fluidificando il substrato; lungo il canale d'innesto lo sviluppo è più lento, si forma l'imbuto in seguito alla fusione della gelatina la quale però si mantiene limpida acquistando una colorazione gialla intensa. Sul fondo del tubo si accumula un deposito giallo costituito da zooglee di bacilli che perdono in breve la loro vitalità ed alla superficie libera della gelatina, a contatto dell'aria, permane un velo batteriaco, giallo, che si ricostituisce rapidamente appena esso venga smosso coll'agitazione del tubo.

Questo microorganismo si sviluppa molto bene sulle patate: esso

vi forma delle ampie chiazze gialle che invadono rapidamente l'intera superficie della fetta; la colorazione gialla diventa sempre più intensa coll' invecchiare della coltura.

Coltivato a stria sopra l'agar-agar inclinato a becco, vi forma una striscia bianca dapprima e poi gialla, a margini frastagliati, che occupa rapidamente l'intera superficie libera del substrato, poscia diventa sagrinata ed in ultimo s'increspa. Anche in queste colture l'invecchiamento è seguito da un notevole aumento nella intensità della colorazione gialla.

\* \* \*

Che i bacilli ottenuti in colture pure siano capaci di riprodurre la malattia in foglie sane, era cosa dimostrata dalle esperienze del Prof. Cuboni. Boyer e Lambert partendo dalle colture del bacillo vivente sui rami hanno riprodotto la malattia sulle foglie. Ho voluto anch' io ripetere le stesse prove ed ho ottenuti risultati pienamente convincenti. Nello scorso giugno prelevai nel podere Koch a Roma, alcuni rametti di gelso esenti da qualsiasi malattia; tali rami vennero tagliati sott' acqua e trasportati colle debite cure in laboratorio. Di essi alcuni vennero sfogliati e le foglie fresche, e mantenute in camera umida furono seminate con acqua distillata in cui era stata sospesa una porzione di una coltura pura del bacillo ricavato dalle ulcere dei germogli. Tre giorni dopo, quando le foglie erano ancora perfettamente verdi, nei punti seminati erano apparse le macchie caratteristiche del male.

Altri rametti conservati in acqua, sotto campana, in modo da costituire attorno ai medesimi un' atmosfera molto umida, vennero infettati nella parte apicale con coltura del bacillo ricavato dalle foglie e stemprata in acqua distillata. Dopo tre giorni i getti ancora turgidi mostrarono in corrispondenza dei punti infettati delle strisce brune perfettamente simili a quelle che si osservano in natura, e la rassomiglianza si accentuò in seguito, quando in corrispondenza delle strisce, i tessuti si avvallarono nel modo caratteristico.

L'esame microscopico diretto, e soprattutto le colture istituite in riguardo, rivelarono la presenza e lo sviluppo del bacillo che era stato seminato.

(Fine in un'altra volta.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Ursachen der Kartoffelfäule.

Von

Prof. Dr. Frank

in

Berlin.

Nach den Untersuchungen, die ich im Laufe der letzten Jahre über die sogenannte Kartoffelkrankheit angestellt habe, erfahren unsere bisherigen Ansichten darüber eine wesentliche Aenderung. Be-

kanntlich gingen dieselben dahin, daß der typische Erreger dieser Krankheit der im Jahre 1845 entdeckte Pilz, die *Phytophthora infestans*, ist. War auch seit Hallier und Reinke bekannt, daß auch Bakterien eine Fäule der Kartoffeln veranlassen können, so gingen doch wohl vielfach die Ansichten dahin, daß auch in solchem Falle vielleicht die *Phytophthora* die ersten Angriffspunkte vorbereitet haben könnte und daß diese als der eigentliche und gewöhnlichste Erreger der Kartoffelkrankheit, d. h. des vorzeitigen Faulens der Kartoffeln noch vor der Ernte oder bei der Aufbewahrung derselben angesehen werden müsse.

Das Beobachtungsmaterial für meine Untersuchungen stammte teils von dem Versuchsfelde der landwirtschaftlichen Hochschule bei Berlin, welches vorwiegend dem Kartoffelbau dient, teils aus den zahlreichen Einsendungen, welche alljährlich aus verschiedenen Provinzen an mein Institut gelangen.

Das Resultat dieser Untersuchungen ist, daß *Phytophthora infestans* nicht der einzige Erreger der Kartoffelfäule ist, sondern daß es eine ganze Reihe verschiedener Organismen giebt, von denen jeder allein imstande ist, diese Krankheit zu erzeugen und daß die *Phytophthora* sogar nur in verhältnismäßig wenigen Fällen die Schuld trägt. In einem Vortrage auf der Generalversammlung des landwirtschaftlichen Vereins der Provinz Brandenburg am 11. Dezember 1896 habe ich bereits dieser neuen Resultate kurz gedacht. Ich will hier die bis jetzt festgestellten Arten der Kartoffelfäule je nach ihren verschiedenen Erregern und Symptomen charakterisieren. Die von mir gewählten Namen werden jetzt zur Bezeichnung der verschiedenen Arten der Kartoffelfäule geeignet erscheinen.

1) Die *Phytophthora*-Fäule. Wenn wirklich die *Phytophthora infestans* die Ursache der Kartoffelfäule ist, so findet man die bekannten einzelligen, d. h. nicht durch Scheidewände septierten, stets zwischen den Zellen wachsenden Myceliumschläuche dieses Pilzes in dem erkrankten Gewebe. Solche Kartoffeln zeigen folgende Krankheitssymptome: braune Flecke im Kartoffelfleisch dicht an der Schale; die letztere zeigt sich an dieser Stelle schon an der nicht zerschnittenen Kartoffel etwas eingesunken und mißfarbig. Die Zellen, zwischen denen die *Phytophthora*-Schläuche wachsen, zeigen sich in ihrem Protoplasma und ihren Zellhäuten stark gebräunt, während ihr Stärkegehalt nicht bemerklich abnimmt; deutliche Korrosionen der Stärkekörner habe ich bei reinem *Phytophthora*-Befall nicht finden können.

Die *Phytophthora infestans* ist ein vorwiegender Blattpilz der Kartoffelpflanze; sie bewirkt hier das bekannte Schwarzwerden der Blätter. In Jahren, wo diese Blattkrankheit nicht auftritt, giebt es gleichwohl kranke Kartoffeln; dann habe ich aber auch nie *Phytophthora* als Ursache der Knollenfäule gefunden. Und selbst wenn dieser Pilz auf den Blättern vorkommt, ist oft die Erkrankung der Knollen nicht durch ihn veranlaßt, sondern durch einen der folgenden Erreger. Nur in solchen Jahren und Gegenden, wo die Blatterkrankung in heftigstem Grade unter Schwarzwerden der ganzen Kartoffelschläge und unter ungemein reichlicher Konidienfruktifikation

des Pilzes auf den Blättern auftritt, also besonders auf schwerem Aueboden und in den Gebirgsgegenden, habe ich *Phytophthora* auch in den Knollen gefunden. Hiernach scheint der Pilz verhältnismäßig schwer auf die unterirdischen Teile der Pflanze überzugehen und erweist sich darin gleich den übrigen Genossen aus der Familie der *Peronosporaceen* als vorwiegend auf die oberirdischen Teile der Pflanze angewiesen.

2) Die *Rhizoctonia*-Fäule. Eine ziemlich häufige Kartoffelfäule, die sich namentlich schon bei der Ernte zeigt, fand ich unter folgenden Symptomen auftreten und in regelmäßiger Begleitung eines bestimmten Fadenpilzes, der von *Phytophthora* auf das bestimmteste verschieden ist. Das kranke Kartoffelfleisch hat eine wässerig-weiche, durchscheinend graue Beschaffenheit, sieht also aus etwa wie ein gekochtes Stück Rübe. In den Zellen ist nämlich das Stärkemehl ganz oder größtenteils verschwunden, man findet alle Stadien der Korrosion der Stärkekörner, welche von ihrer Oberfläche aus gleichsam abschmelzen bis zum Verschwinden. Die Zellen enthalten zuletzt nur noch klaren Zellsaft mit wenig Protoplasma und sterben zuletzt unter Verlust ihres Turgors. Die Erscheinung verdient also besonders die Bezeichnung Naßfäule. Sie breitet sich oft rasch über und durch die Kartoffel aus und beginnt von einem Punkte der Oberfläche, sehr häufig vom hinteren Ende des Knollens; besonders sind es die längeren Kartoffeln und die sogenannten durchwachsenen, in welchen vom Hinterrande aus diese Fäule rasch vorwärts rückt. Regelmäßig findet sich nun in dem kranken Gewebe ein Pilzmycelium von folgender Beschaffenheit: farblose, sehr reich mit Protoplasma erfüllte und mit häufigen Querscheidewänden versehene Fäden von bedeutender Dicke, nämlich 0,006—0,009 mm Querdurchmesser; sie wachsen zwar oft vorwiegend zwischen den Zellen, aber häufig zugleich auch quer durch dieselben und verzweigen sich innerhalb der Zellen. In jeder Zelle, in welche die Fäden eingedrungen sind, schmelzen die Stärkekörner sehr rasch ab, ja gewöhnlich eilt die Auflösung der Stärke in dem Kartoffelgewebe diesem Pilze weit voraus, so daß man schon in weiter Entfernung von dem Punkte, welchen die vorwärtsdringenden Myceliumfäden soeben erreicht haben, bereits die Stärkekörner sich auflösen sieht, ohne daß ein anderer Organismus als besagter Pilz in der Kartoffel sich nachweisen ließe. Es wird also hier, wie in bereits bekannten anderen Fällen dieser Art, anzunehmen sein, daß von dem Pilze ein auflösend wirkendes Ferment erzeugt wird, welches löslich ist und deshalb von Zelle zu Zelle diffundieren kann. Es liegt dabei noch ein Lebensprozeß der Kartoffelzelle vor, denn die letztere enthält dabei, auch wenn sie schon ganz stärkeleer geworden, noch das unveränderte farblose Protoplasma mit dem Zellkern, der an Protoplasmafäden aufgehängt ist, in denen sich deutliche Protoplasmaströmung nachweisen läßt. Erst später schreitet der Prozeß bis zur Abtötung, Gerinnung und Bräunung des Protoplasmas fort.

Ich habe den Pilz bisher nicht zur Fruktifikation bringen können. Nach längeren Beobachtungen und Versuchen gelang es mir aber nachzuweisen, daß derselbe mit demjenigen Pilze identisch ist, welcher

uns unter dem Namen *Rhizoctonia Solani* bekannt ist. Freilich sieht die letztere ganz anders aus und ist bisher nicht als Erzeuger der Kartoffelkrankheit erkannt worden. Sie ist lediglich eine auf der Oberfläche der Kartoffelschale wachsende Pilzwucherung, welche Kühn passend die Pocken der Kartoffel genannt hat: es sind mehr oder weniger vorspringende, harte, schwarzviolette Krusten, welche aus rötlichbraunen, dicken und innig miteinander verflochtenen Pilzfäden bestehen, wobei oft auch Sandkörnchen mit eingewebt sind. Diese Krusten sitzen nur in der äußersten Lage der Kartoffelkorkzellen fest und beschädigen die Kartoffel nicht; man kann sie mit dem Fingernagel abstoßen oder abkratzen, desgleichen auch durch scharfes Bürsten entfernen; darunter sieht man die glatte, unversehrte Kartoffelschale, wie denn solche Kartoffeln auch im Inneren ganz gesund sind. Diese Krusten sind eine sklerotienartige, sporenlose Pilzbildung und entstehen offenbar durch einen vom Erdboden aus auf die Kartoffel aufwachsenden Pilz.

Folgende Beobachtungen lehrten mich die Zugehörigkeit der so vielfach von mir bei der Naßfäule gefundenen, dicken, septierten Pilzfäden zu der *Rhizoctonia Solani* und also die Fähigkeit der letzteren, parasitären Charakter anzunehmen. Die erwähnten *Rhizoctonia*-Krusten nehmen ihren Ursprung aus langen, schlanken Myceliumfäden, welche auf der Oberfläche der Kartoffelschale hinwachsen und sehr häufig auch da schon vorhanden, natürlich nur mittels des Mikroskopes nachweisbar sind, wo eigentliche *Rhizoctonia* noch nicht entstanden ist. Diese Fäden sind ebenso durch Scheidewände gegliedert und ebenso dick wie die in der naßfaulen Kartoffel, nämlich 0,006—0,009 mm, aber rötlichbraun gefärbt, wie die der *Rhizoctonia*, und man kann sehr leicht verfolgen, wie durch allmähliche Verflechtung dieser Fäden, was gewöhnlich im Inneren der äußersten Korkzellen beginnt, allmählich *Rhizoctonia*-Krusten heranwachsen. Es handelt sich hier also augenscheinlich um ein Pilzmycelium, welches vom Erdboden aus auf die Kartoffel aufwächst und unter Umständen hier zu den *Rhizoctonia*-Bildungen übergeht, wobei die Ernährung des Pilzes offenbar vom Erdboden aus oder aus den äußeren toten Korkzellschichten erfolgt, denn unter gewöhnlichen Umständen geht der Pilz ja nicht ins Innere der Kartoffel hinein. Nun konnte ich aber in vielen Fällen beobachten, wie diese rötlichbraunen Fäden von der Kartoffelschale aus gelegentlich auch ins innere stärkehaltige Gewebe der Kartoffel eindringen, wie es scheint, besonders an kleinen Wunden, an vorgebildeten Schorfstellen oder auch wohl an Lenticellen. Sobald dann diese Fäden tiefer in die Schale und unter dieselbe eingedrungen sind, besitzen sie nicht mehr den rötlichbraunen Farbstoff in ihren Zellhäuten, den der Pilz nur außerhalb des Pflanzengewebes erzeugt; sie gleichen dann vollständig den vorherbeschriebenen farblosen und protoplasmareichen Fäden in den naßfaulen Kartoffeln. Dies läßt sich alles an einem und demselben Faden verfolgen. Auch Uebertragungsversuche bewiesen mir diesen Zusammenhang. Wenn ich in absichtlich gemachte kleine Wundlöcher gesunder und reinschaliger Kartoffeln *Rhizoctonia*-Pocken, die ich von der Oberfläche pockiger Kartoffeln abhob, einsetzte, die Impfstelle mit Stanniol be-

deckte und mit Bast verband und dann die Kartoffeln in mäßig feuchte Erde legte, so zeigte sich bei der Untersuchung nach einigen Wochen, daß die Zellen der *Rhizoctonia*-Kruste in farblose Myceliumfäden von der Beschaffenheit derer in den naßfaulen Kartoffeln ausgewachsen und in das Kartoffelfleisch eingedrungen waren, wo sie deutlich wieder die Auflösung der Stärkekörner in jeder von ihnen erreichten Kartoffelzelle bewirkt hatten. Umgekehrt machte ich folgende Uebertragung mit Erfolg. Aus dem Inneren einer typisch naßfaulen Kartoffel wurde ein Gewebestück, welches reichlich von den oben beschriebenen, dicken, septierten, farblosen Myceliumfäden durchwuchert war, in eine leicht ausgestochene Stelle der Oberfläche einer gesunden, reinschaligen Kartoffel eingesetzt, wiederum unter Bedeckung mit Stanniol und Verband mittels Bast. Während nun einerseits die farblosen Fäden des faulen Kartoffelstückes in das geimpfte Kartoffelfleisch übergewachsen waren, hatten sie andererseits, da sie jetzt künstlich an die Oberfläche der Kartoffel versetzt worden waren, sich zu den charakteristischen *Rhizoctonia*-Krusten entwickelt, indem sie rötlichbraune Färbung angenommen, sich innig miteinander verflochten und eine sehr kräftige, schwarzviolette Pocke in dem Impfloche gebildet hatten. Durch diese kreuzweise Uebertragung und gelungene Umwandlung des einen in das andere ist die Identität beider Pilzbildungen nachgewiesen, und bei der großen Häufigkeit der *Rhizoctonia* auf den Kartoffeln auch die Häufigkeit der hier beschriebenen Art der Kartoffelfäule erklärlich.

(Schluß folgt.)

## Original-Referate aus bakteriologischen und gährungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

### Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe<sup>1)</sup>.

Von

Dr. H. Will.

Die Angaben in der Litteratur<sup>2)</sup> über die Lebensdauer getrockneter Hefe lauten sehr verschieden. Bei der Beurteilung der-

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftl. Station für Brauerei in München, in Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. 1896. No. 34 u. ff.

2) Hansen, Bot. Centralblatt. 1885. No. 6. p. 184. — *Recherches sur la physiologie et morphologie des ferments alcooliques. Les ascospores chez le genre Saccharomyces.* (Medd. fra Carlsberg Laborat. Bd. II. Résumé p. 29.) — Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. Beitrag zur Lebensgeschichte der Mikroorganismen. 3. Aufl. Heft I. München u. Leipzig (R. Oldenbourg) 1895. p. 24.

Kaiser, Einwirkung der Wärme auf die Hefe. (Ann. Inst. Pasteur. 1889. No. 10. p. 513.) — *Études sur la fermentation du cidre.* (Ebenda, 1890. No. 6. p. 321.) — Ueber die Lebensdauer der Hefen. (La Bière. 1895. No. 24. p. 14.) — Beiträge zur Kenntnis der Weinhefen. (Ann. Inst. Pasteur. 1892. No. 8. p. 581.)



selben sind die Versuchsergebnisse mit rein vegetativen Zellen und diejenigen mit Sporen streng auseinander zu halten. Die längste Lebensdauer beträgt nach diesen Angaben für die vegetativen Zellen einer Weinhefe und einer obergärigen Bierhefe im trockenen Zustande 4 Jahre, während die Sporen derselben Hefen sich annähernd 5 Jahre lang lebensfähig erhalten hatten. Diese Zeitangaben besitzen umso mehr Wert, als sich dieselben auf Reinkulturen beziehen. Die von den verschiedenen Beobachtern gemachten Angaben sind jedoch nur für die gegebenen Versuchsbedingungen gültig; hierin liegt, wenigstens teilweise, auch der Grund für die so weit voneinander abweichenden Resultate, Verhältnisse, auf welche einzelne der Beobachter bereits hingewiesen haben. Abgesehen davon, daß die verschiedenen Hefenarten eine recht verschiedene Widerstandsfähigkeit schon gegen das Austrocknen allein zeigen, ist auch die Lebensdauer verschiedener Arten oder Rassen unter gleichen äußeren Bedingungen sehr verschieden. Auch das Alter und die Abstammung der Hefe ist zweifellos von Einfluß auf die Lebensdauer. In je kräftigerem Zustande die Hefe getrocknet wird, und je mehr sie sich in diesem Zustande während des Trocknens erhält, je weniger sie durch Autodigestion während des Trocknens von ihren Reservestoffen eingebüßt hat, und je weniger die Konstitution der Zelle durch das Austrocknen erschüttert wurde, desto länger wird sie ihre Lebenskraft unter günstigen äußeren Bedingungen behalten.

Ob die Hefe in dicker oder dünner Schicht eingetrocknet wurde, kommt bei der Frage nach der Lebensdauer ebenfalls in Betracht.

Beschleunigt kann bei Anwendung gewöhnlicher Bier- und Weinhefe die Herbeiführung des Lebensendes der getrockneten Zellen werden infolge einer während des Trocknens stattfindenden Schwächung derselben durch eine ausgiebige Bakterienentwicklung, zumal wenn das Austrocknen bei gesteigerter Temperatur sehr langsam vor sich geht. Je rascher das Austrocknen erfolgt, desto geringer wird auch die Wirkung der höheren Temperaturgrade auf die Hefezellen sein.

Neben der Art und Weise des Trocknens, ob in dünner oder dicker Schicht, ob an der Luft oder über Schwefelsäure, bei gewöhnlicher oder erhöhter Temperatur, ist die Höhe des Wassergehaltes, der Zutritt, resp. die Absperrung der Luft und des Lichtes, sowie

- 
- Pasteur, *Études sur la bière*. p. 80. 81. 82. 220.  
 Wiesner, Untersuchungen über den Einfluß, welchen Zufuhr und Entziehung von Wasser auf die Lebensthätigkeit der Hefenzellen äußern. Stuttgart 1872. p. 105. Anm.  
 Zopf, *Die Pilze*. 1890. p. 217.  
 Swan, P., Sporenbildung und allgemeine Beschreibung einer roten Hefe. (*Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.* II. Abt. 1896. No. 1. p. 7.)  
 Reinke, *Wochenschr. f. Brauerei*. 1891. No. 25. p. 703.  
 Hoffmann, Zur Naturgeschichte der Hefe. (*Bot. Untersuchungen aus dem phys. Laboratorium der landw. Lehranstalt in Berlin*, herausgegeben von H. Karsten. Bd. I. p. 359.)  
 Claude Bernard, *Leçons sur les phénomènes de la vie*. 1870. p. 54.  
 Schuhmacher, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. (*Sitzungsber. der Wiener Akad.* 1874. Bd. LXX. Separat-Abdr. p. 8. Anm.)  
 Schröder, Ueber die Austrocknungsfähigkeit der Pflanzen. (*Unters. aus dem bot. Institut. Tübingen.* Bd. II. p. 38.)

die Höhe der Temperatur während der Aufbewahrung der Hefe für die Lebensdauer von hervorragender Bedeutung.

Ueber die Höhe des Wassergehaltes der getrockneten Hefen finden sich mit Ausnahme der von Wiesner mitgeteilten Versuche keine Angaben. Es kann also dieser Faktor bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse nicht in Rechnung gezogen werden.

Bei den mitgeteilten Versuchen geschah die Aufbewahrung der trockenen Hefen fast ausnahmslos unter Zutritt der Luft, teils im Dunkeln (im Thermostaten) oder wenigstens nur im zerstreuten Tageslicht. Wesentlich ist besonders mit Rücksicht auf meine eigenen Beobachtungen, daß die Aufbewahrung, soweit ersichtlich, bei gewöhnlicher Temperatur im Laboratorium und bei höherer Temperatur im Thermostaten, in keinem Falle aber bei niedriger, dem Nullpunkt nahe gelegener, geschah.

Beim Vermischen der Hefe zwecks der Konservierung mit verschiedenen Substanzen, wie das vielfach im Gebrauch ist, mit darauffolgendem Trocknen, spielt natürlich die Natur dieser Beimengungen eine wesentliche Rolle. Es kommt hierbei in Betracht, ob Bestandteile derselben, wie beim Vermischen mit Hopfen, bis zu einem gewissen Grade gleichzeitig konservierend wirken, ob die physikalischen Eigenschaften des beigemengten Stoffes, beispielsweise die Absorptionsfähigkeit für schädlich auf die Hefe einwirkende Gase, wie dies bei der Holzkohle in so ausgiebigem Maße der Fall ist, günstig auf die Lebensdauer einwirken, ob dieselben eine hohe Absorptionsfähigkeit für Wasser besitzen, wie dies beispielsweise beim Gips der Fall ist, oder ob sie sich völlig indifferent verhalten.

Im Jahre 1886 erhielt ich den Auftrag, Versuche über die zweckmäßigste Art der Konservierung von Hefe anzustellen, um auf Grund der dabei gewonnenen Erfahrungen entsprechende Einrichtungen, speziell für den überseeischen Versandt von Reinhefe, treffen zu können. In erster Linie wurde das Austrocknen, nachdem die Hefe mit verschiedenen Substanzen auf das innigste vermischt war, einer eingehenden Untersuchung unterzogen.

Zunächst wurde hierzu nur gewöhnliche gute untergärige Bierhefe und in einem Falle eine gewöhnliche Münchener Weißbierhefe mit allen ihren Beimengungen an wilder Hefe und Bakterien verwendet. Später kamen auch noch Proben von solchen Hefen zur Beobachtung, welche für den Versandt präpariert worden waren, so eine reingezüchtete untergärige und eine obergärige Bierhefe.

Die untergärigen Hefen wurden trocken gepreßt und dann mit Kieselguhr, Asbestwolle, Gips, Holzkohle, Holzstoff (Holzschliff; nach dem Vorschlag von Aubry), sowie Papiermasse (reine Filtrierpapierabfälle) möglichst gleichmäßig vermengt. Die obergärigen Hefen wurden direkt im feuchten Zustand verwendet, die Mischungen kamen wiederholt in die Presse. Das Trocknen bei einer Temperatur von 25—40° steigend geschah auf kleinen Versuchsdarren und nahm bei den verschiedenen Mischungen verschieden lange Zeit (bis zu 73 Stunden) in Anspruch.

Die Konserven wurden unmittelbar von den Darren weg in sterile Weißblechbüchsen eingefüllt und letztere dann in den meisten Fällen sofort verlötet.

Der Wassergehalt der konservierten Hefen bewegte sich zwischen 2,8 und 5,6 Proz.; nur in einem Falle (Kieselguhrhefe) betrug derselbe 13,9 Proz.

Die geringe Haltbarkeit der mit Gips gemischten Proben würde mit den Beobachtungen von Reinke und Anderen<sup>1)</sup> in Einklang stehen, dagegen die größere Haltbarkeit einer mit Holzkohle vermischten Probe mit dem geringsten Wassergehalt von nur 2,9 Proz. der gemachten Annahme über den Einfluß des Wassergehaltes der Konserven auf die Haltbarkeit derselben widersprechen.

Sporen oder Dauerzellen werden während des Trocknens von den Hefen nicht entwickelt.

Als Maßstab für die Haltbarkeit der Konserven und damit auch für die Schwächung und die Lebensdauer der Hefezellen selbst wurde die Gärkraftprüfung derselben — nach Meißl — benutzt; später wurden Proben der getrockneten Hefemischungen auch nur direkt in sterile Würze eingeführt.

Die Beobachtungen über die Haltbarkeit der Hefekonserven, wie sie in erster Linie vom rein praktischen Standpunkte in Frage kam, wurden durch wiederholte Prüfung der Gärkraft zunächst mehrere Monate hindurch angestellt. Später benutzte ich die einmal vorhandenen Konserven dazu, einen Beitrag zu der Frage zu liefern: wie lange können getrocknete Hefezellen unter gegebenen Bedingungen am Leben bleiben. Infolgedessen wurden einige der Konserven nach einer längeren Pause nur mehr jährlich einmal auf die Gegenwart von lebensfähigen Hefezellen untersucht. Die Beobachtungen sind also nur gelegentliche; trotz der vielen Lücken, welche sie infolgedessen darbieten müssen, dürften sie doch nicht ganz ohne Interesse sein.

Die Aufbewahrung der Konserven war während dieser Zeit eine verschiedene. Zum Teil standen dieselben im Eiskasten des Panumschen Thermostaten, z. T. im Laboratorium, und zwar hier teilweise an offenen Büchsen unter Glasglocken. Von einer Konserve (mit Holzstoff) wurde vom 7. Jahre ab ein Teil im Eiskasten, der andere im Laboratorium in einem Stöpselglas mit viel Luftraum aufbewahrt.

Die Resultate der Untersuchungen und Beobachtungen, welche sich in der vorliegenden ersten Mitteilung auf einen Zeitraum von 9 Jahren erstrecken, sind in einer Tabelle zusammengestellt. Die inzwischen nach Verlauf eines weiteren Jahres gewonnenen Ergebnisse sollen jedoch hier ebenfalls kurz angedeutet werden.

Die Schlußfolgerung, welche aus denselben abgeleitet werden kann, ist die, daß es Hefenarten giebt, von welchen einzelne vegetative Zellen in getrocknetem Zustande viel länger, als nach den bisherigen Angaben angenommen werden dürfte, mindestens aber  $10\frac{1}{4}$  Jahre lang befähigt sind, unter bestimmten äußeren Verhältnissen ein latentes Leben zu führen, um, in Nährlösung übergeführt, zu sprossen und Gärung zu erregen. Im allgemeinen scheint auch

1) Vergl. Heron, Ueber die verschiedenen Methoden der Konservierung. (Diary for the Brewing Room for 1896, durch Wochenschrift für Brauerei. 1896. No. 7. p. 163) — Hotz, Ueber Konservierung der Hefe. (American Brewers Review. Vol. IX. 1896. No. 8. p. 297.)

hier wieder unter den gegebenen Bedingungen die wilde Hefe widerstandsfähiger zu sein als die Kulturhefe, wenngleich in zwei Fällen unter besonderen Bedingungen (Holzkohlekonserven) auch eine größere Anzahl von Kulturhefezellen lebensfähig geblieben war. Auch zur Gruppe des *S. apiculatus* gehörige Arten besitzen unter diesen Bedingungen eine größere Widerstandsfähigkeit als unter den Verhältnissen, unter welchen dieselben bis jetzt geprüft worden waren.

Wenn auch, wie sich aus zwischenliegenden systematischen Versuchen ergibt, hinsichtlich der Beurteilung der Faktoren, welche auf die Lebensdauer der Hefezellen von Einfluß sind, vorläufig noch große Vorsicht geboten erscheint, so dürfte doch aus den mitgeteilten Beobachtungen schon jetzt geschlossen werden, daß niedrigere, um 0° sich bewegende Temperatur die Lebensdauer erhöht, höhere dieselbe verkürzt. In dieser Richtung ist besonders die in der Tabelle unter No. 13 aufgeführte Holzstoffkonserve, von welcher nach 7 Jahren ein Teil bei niederer, der andere bei gewöhnlicher Temperatur im Laboratorium aufbewahrt wurde, von besonderem Interesse. Erstere Probe enthielt auch nach 10<sup>1</sup>/<sub>4</sub> Jahren noch verhältnismäßig viele lebensfähige Zellen, darunter auch noch Spuren von Kulturhefe, während die letztere auch bei lange Zeit hindurch fortgesetzter Beobachtung keine Hefe, in der einen Parallelkultur nicht einmal Bakterien entwickelte. Ebenso dürfte der Abschluß der Luft und ein verhältnismäßig niedriger, größeren Schwankungen nicht ausgesetzter Wassergehalt der getrockneten Hefe die Lebensdauer derselben erhöhen. Der günstigste Wassergehalt läßt sich allerdings aus den vorliegenden Beobachtungen nicht erkennen, jedoch waren in einem Falle bei einem ursprünglichen Wassergehalt von nahezu 3 Proz., der bis auf nahezu 6 Proz. stieg, nach 9 Jahren noch verhältnismäßig viele Zellen am Leben, während in einem anderen Falle bei einem Wassergehalt von etwa 4 Proz. unter den gegebenen besonderen Bedingungen (Beimischung von Gips) das Leben der Zellen schon nach 7 Monaten fast erloschen war. Bei einem Wassergehalte von ca. 6 Proz. war bei anderen Konserven die Lebensdauer der Hefezellen ebenfalls verhältnismäßig lange.

Von maßgebendem Einfluß auf letztere ist auch die Art und Weise, wie das Trocknen der Hefe durchgeführt wurde, ob direkt oder ob unter Beimischung gewisser, nicht zu stark Wasser entziehender Substanzen. Die Natur dieser Substanzen spielt hierbei ebenfalls eine wichtige Rolle. Beispielsweise hielten sich die Holzkohlekonserven besser und länger als die Gipskonserven. Sehr gute Resultate werden, wie ich auf Grund vielfacher Erfahrung weiß, bei sachgemäßer Präparation durch Beimischung von Holzstoff zur Hefe erzielt.

---

## Referate.

**Lyons, Robert E.**, Ueber den Einfluß eines wechselnden Traubenzuckergehaltes im Nährmaterial auf die Zusammensetzung der Bakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. XXVIII. Heft 1. p. 30.)

Verf. züchtete 3 Arten von Kapselbacillen auf neutralem Fleisch-extraktagar mit wechselnden Traubenzuckerzusätzen. Die erhaltenen Kulturen wurden im Vacuum und später bei 105° C getrocknet, wobei flüchtige Säuren in nennenswerter Menge nicht entwichen. Die Analyse der getrockneten Bakterienmasse ergab, daß mit zunehmendem Traubenzuckergehalte des Nährbodens eine Verminderung des Stickstoffgehaltes und somit eine Abnahme des Bakterieneiweißes eintrat, während dagegen die alkohol- und ätherlöslichen Anteile in den traubenzuckerreicheren Nährsubstraten an Menge zunahmen. Die Bildung der fettartigen, in Aether löslichen Bestandteile der Bakterienmasse schien allerdings schon bei einem Traubenzuckergehalte von 5 Proz. im Nährmaterial ihr Maximum erreicht zu haben. Der Aschegehalt, welcher in den Nährböden mit hohem Traubenzuckergehalt natürlich ein relativ geringerer ist, als in denjenigen mit niedrigem Gehalte an Kohlehydraten, nahm auch in den Bakterien diesen Verhältnissen entsprechend ab, jedoch nur bis zu einem bestimmten Punkte, unter welchen er nicht weiter herabsank.

Nach Bestimmung des Stickstoffes, der äther- und alkohollöslichen Bestandteile und der Asche hinterblieb stets ein „unbestimmbarer Rest“. Dieser scheint aus stärkeähnlichen Substanzen zu bestehen. Seine Menge war umso größer, je reicher das zur Züchtung verwendete Material an Kohlehydraten war, so daß ein gewisser Zusammenhang zwischen der Kohlehydratbildung in den Bakterien und dem Kohlehydratgehalt des Nährmaterials zu bestehen scheint.

Vogel (Hamburg).

**Lafar, Franz**, Technische Mykologie. Ein Handbuch der Gärungsphysiologie für technische Chemiker, Nahrungsmittelchemiker, Gärungstechniker, Agrikulturchemiker, Pharmaceuten und Landwirte. Mit einem Vorwort von **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen. Bd. I. Schizomycetengärungen. Jena (Gustav Fischer) 1896.

Ladenpreis M. 9,00.

Eine möglichst allseitige zusammenfassende Darstellung der Gärungserscheinungen und ihrer Urheber mit spezieller Berücksichtigung der Gebiete der Technik und Industrie wurde in der bisherigen Litteratur gänzlich vermißt. Es ist daher mit großer Freude zu begrüßen, daß Dr. F. Lafar, der sich als Schüler Emil Chr. Hansen's, des nordischen Pasteur, seit Jahren der technischen Mikrobiologie zugewandt hat, diese recht fühlbare Lücke durch Ausarbeitung einer „Technischen Mykologie“ auszufüllen bestrebt ist, deren erster Teil, die „Schizomycetengärungen“, bereits vorliegt, deren zweiter in Bälde nachfolgen wird.

Wer heutzutage eine technische Mikrobiologie schreiben will, hat große Schwierigkeiten zu überwinden und manche Klippe zu vermeiden: der Autor muß einen immensen Fleiß aufwenden, um die ungeheuer angeschwollene Litteratur an ihren Quellen durchzuarbeiten, nicht bloß die wissenschaftliche, sondern auch die der so zahlreichen Fachzeitschriften der Praktiker. Er soll mit scharfem Blicke den wissenschaftlichen Weizen von der dilettantischen Spreu sondern, und die ausgelesenen Thatsachen mit Sachkunde und Geschick so gruppieren, daß klare Gesamtbilder entstehen. Es liegt für ihn gar zu nahe die Gefahr einer einseitigen Betonung des praktischen Standpunktes gegenüber dem rein wissenschaftlichen (theoretischen), ebenso nahe die Gefahr, sich in das Schlepptau pretendiös auftretender Ideen, denen die wahre Thatsachenunterlage zum Teil fehlt, nehmen zu lassen, oder Versuche Anderer nachzuahmen, die historische Entwicklung der Forschung auf diesem oder jenem Gebiete der Gärungslehre und Gärungsorganismen in falschem Lichte darzustellen.

Man muß nun sagen, daß der Autor in diesem ersten Teile seines Werkes viel Mühe, Sorgfalt, Geschick und Liebe zur Sache bekundet, um diese und noch andere Klippen und Schwierigkeiten thunlichst zu überwinden. Und so glaube ich mich nicht zu täuschen, wenn ich meine, das Buch wird Interesse und Verständnis für Gärungsprozesse und Gärungsorganismen in denjenigen Kreisen, für die es dem Titel nach zunächst bestimmt ist, in hohem Maße fördern. Als beste Empfehlung für dasselbe dürfte wohl die Vorrede dienen, die Prof. Emil Chr. Hansen dem vorliegenden Bande vorausgeschickt hat. In dieser ist bereits darauf hingewiesen, daß selbst der Forscher von dem Buche Nutzen ziehen wird. Dasselbe zeigt natürlich auch seine Mängel. Ref. will auf dieselben hier nicht eingehen, sondern lieber dem Autor für eine vermutlich bald nötig werdende zweite Auflage Notizen geben. Da das Litteraturverzeichnis, auf das durch Zahlen hingedeutet ist, erst dem zweiten Bande beigelegt werden kann, so wäre das baldige Erscheinen des letzteren um so erwünschter. Einen sehr angenehmen Eindruck macht das gediegene Gewand, in welchem die Verlagshandlung das Buch hat erscheinen lassen.

W. Zopf (Halle a. S.).

**Boullanger, M. E.**, Contribution à l'étude de quelques levures de bière. (Ann. Inst. Pasteur. Année X. T. X. 1896. No. 10. p. 597.)

Verf. untersuchte folgende untergärige Bierhefen, die nach ihrer Herkunft benannt sind: Neunkirchen, Baß, 48 (Kopenhagen), Hofbräu, Weihenstephan, Löwenbräu, Riga X. Dieselben hatten sich durch ihr Verhalten bei einer Gärung in Malzkeimwasser mit 20 Proz. Zucker von anderen gleichzeitig untersuchten Hefen scharf unterschieden. Hierzu kam noch eine Hefe vom Froberg- und Saaz-Typus sowie eine obergärige Hefe von Brüssel.

Die Hefen Baß und Neunkirchen hatten im Jahre 1889 M. E. Kayser zu seinen Studien über die Einwirkung höherer Temperaturen auf Hefe gedient. Dieselben waren alle 3—4 Monate aufge-

frisch worden. Früher überdauerten dieselben im feuchten Zustande die Einwirkung einer Temperatur von 60°. jetzt widerstehen sie nur mehr 50° C. Außerdem hatte die Hefe Baß die Fähigkeit verloren, Sporen zu bilden. Dagegen wurden von derjenigen Hefe, welche aus dem im Jahre 1889 konservierten sporenhaltigen Materiale regeneriert worden war, wieder Sporen entwickelt. Ebenso hatte letztere ihre Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen besser bewahrt, indem sie 55° noch aushielt, bei 60° — gegenüber 65° im Jahre 1889 — aber abstarb.

Verf. vergleicht außerdem die Attenuation dieser Hefen in der gleichen Würze. Bei den obergärigen Hefen war die Gärdauer im ganzen 35 Tage, bei den untergärigen 20 Tage; die Nachgärung dauerte bei letzteren 2 $\frac{1}{2}$  Monate. Es ergaben sich hierbei folgende Grenzwerte.

	Gesamtsäure als Weinsäure berechnet	Maltoserest g im l	Dextrinrest g im l	Extrakt bei 100° g im l	Alkohol g im l	Attenuation	Maltose: Nichtmaltose 1:
Würze, unvergoren		106.6	36.4	171.8			0.6
	1.20	17.5	30.2	56.8	52.7	76.5	3.3
	0.67	9.3	20.0	40.4	41.4	66.9	2.2

Die höchste Vergärung zeigten die Hefen Froberg, Neunkirchen und Weihenstephan, die geringste Hefe Saaz.

In den obergärigen Bieren ist der Maltoserest größer als in den untergärigen. Die lange Nachgärung bei letzteren gleicht die anfänglichen Unterschiede wieder aus. Die Hefen Froberg, Neunkirchen und Hofbräu scheinen das Dextrin in bemerkenswerter Menge anzugreifen.

In einer dritten Versuchsreihe suchte Verf. für seine Hefen die Menge des Stickstoffes, welche aus der gleichen Würze entnommen und in den unlöslichen Zustand durch die Hefe selbst übergeführt wird, zu bestimmen.

Aus den erhaltenen Zahlen geht hervor, daß der Stickstoff der erzeugten Hefe sehr stark schwankt (von 5,18—9,00 Proz.); ebenso verhält sich die Gewichtsmenge der Hefe (2,133—3,11 g p. l).

Wenn man die Menge Stickstoff, welchen die Hefe Saaz aus der Würze entnimmt, gleich 100 setzt, so ergibt sich, daß dieselbe bei den verschiedenen Hefen sich zwischen 45 und 100 bewegt.

Verf. untersuchte außerdem den Stickstoffgehalt der Hefe nach verschiedener Gärdauer. Derselbe erreicht fast sofort diejenige Höhe, auf der er sich während der Gärung erhält. Innerhalb 10 Tagen nahm er nur um 0,36 Proz. (von 8,19—8,50 Proz.) zu.

In ähnlicher Weise verhält sich das Gewicht der erzeugten Hefe.

Nach beendigter Gärung giebt die Hefe Stickstoff an die Nährlösung ab. Die Menge des durch die Hefe in unlöslichen Zustand übergeführten Stickstoffes ist sehr variabel.

Von dem Dextrin war regelmäßig bis zum 13. Tage etwa der dritte Teil verbraucht.

Verf. konstatierte außerdem, daß bei starkem Luftzutritt die vergorene Würze weniger stickstoffhaltig ist, als bei erschwertem Luftzutritt, und zwar sowohl bei obergäriger wie bei untergäriger Hefe. Man kann jedoch nicht ohne weiteres sagen, daß dies den Stickstoffmengen entspricht, welche die Hefe zu ihrem Aufbau entnommen hat, denn die Ausscheidungen, welche in der Kultur an der Oberfläche entstehen, lassen eine absolut genaue Bestimmung der Hefemenge und ihres Stickstoffgehaltes nicht zu.

Das Dextrin wird bei erschwertem Luftzutritt zur Gärung weniger angegriffen; es tritt dies hauptsächlich bei den untergärigen Hefen hervor. Von der Maltose wird bei erschwertem Luftzutritt durch die obergärigen Hefen weniger vergoren als durch die untergärigen.

H. Will (München).

**Kabner, G.,** Ueber die alkoholische Gärung der Wachholderbeeren. (Apothekerzeitung. Jahrgang XI. 1896. No. 63. p. 584—585.)

Steueramtlich war Verf. befragt, ob man aus Wachholderbeeren, welche in einem Mörser zerstampft, dann mit Wasser eingeweicht und 1—3 Tage sich selbst überlassen werden, durch Destillation ein alkoholhaltiges Erzeugnis gewinnen kann.

Verf. machte also praktische Versuche in 4 Glaskolben mit je 250 Wachholderbeeren italienischer Herkunft. Nach 24, 48 und 72 Stunden wurde der Inhalt je eines Kolbens auf Alkohol geprüft, doch konnten in keinem derselben Spuren von Alkohol nachgewiesen werden.

Der vierte Kolben blieb bis zur Wahrnehmung deutlicher Anzeichen der Gärung (Gasentwicklung) stehen, was nach 6 Tagen der Fall war.

Es wirken also die an den Wachholderfrüchten sitzenden Hefezellen verhältnismäßig träge gegenüber den an süßen Früchten sitzenden; es scheint also die Vermutung gerechtfertigt, daß die Ursache der trägeren Wirkung in dem Gehalte der Beeren an aromatischen bzw. ätherischen Oelen und Harzen zu suchen ist, welche als antiseptisch wirkende Stoffe bekannt, diese Wirkung auch den Sproßpilzen gegenüber in gewisser Weise äußern werden.

E. Roth (Halle a. S.).

**Hehle, A.,** Ueber das Blauwerden der Käse. (Molkereizeitung. 1896. No. 44.)

Man kennt zweierlei Ursachen für diesen Käsefehler, die Verunreinigung der Milch durch sehr geringe Mengen Eisenrost (Schmöger), der eine Blaufärbung der Käse durch die ganze Masse hervorruft, und diejenige durch die Bakterien der blauen Milch (Fleischmann, de Vries, Adametz), die in dem daraus bereiteten Käse blaue Flecke hervorbringen. — Namentlich die erstere ist häufig die Folge von rostigen Milchkannen, Kühlern etc. Schmöger hat beobachtet, daß der Fehler auftrat, als einige Nietenköpfe im Inneren der Centrifugentrommel etwas Rost angesetzt hatten. Es reichen



also schon sehr geringe Mengen Eisen aus, um ein ganzes größeres Tagesquantum Milch zu entwerten. Verf. berichtet über einen Fall, bei dem Verunreinigung durch rostige Kannen ausgeschlossen war, die Milch sich aber bei der Tanninprobe als eisenhaltig erwies und nimmt an, daß übermäßiges Eisen im Futter (Zuckerrübenschnitzel, die über Nacht in einer eisernen Kippkanne sich befanden) die Schuld war, und hält es für möglich, daß die Milchdrüsen, wie bei der Aufnahme von Blei, Kupfer etc., secernierend wirkten.

Wenn auch dieser Fall einer genaueren Aufklärung noch harrt, so ist diesem Käsefehler doch noch leichter abzuhelpen, als dem Blauwerden von Käsen, das durch Bakterien verursacht wird und bei dessen Auftreten man meistens rat- und hilflos dasteht.

Baier (Berlin).

**Wagner, G.,** *Gloeosporium Myrtilli* Allesch. nov. spec., ein gefährlicher Feind von *Vaccinium Myrtillus*. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. VI. 1896. p. 198.)

Dieser von Allescher beschriebene und bezeichnete Pilz befällt die Heidelbeere unter folgenden Symptomen: Der Pilz verursacht auf beiden Blattseiten verschieden gestaltete, bald rundliche, bald mehr unregelmäßige, oft zusammenfließende rotbraune Flecke, die zuletzt das ganze Blatt vollständig einnehmen und töten. Auf der oberen Blattseite sind sie etwas dunkler, manchmal auch etwas violett umsäumt. Die sehr kleinen Sporenlager stehen zerstreut auf beiden Blattseiten, sind bleich bis weißlich, oftmals kaum erhaben und von der gespaltenen Epidermis umgeben. Die farblosen 6—10  $\mu$  langen und  $1\frac{1}{2}$ —3  $\mu$  breiten Konidien stehen auf kurzen, fadenförmigen, hyalinen Trägern, sind länglich oder cylindrisch, an den Enden mehr oder weniger abgestumpft und enthalten meist mehrere Oeltröpfchen. — Die Krankheit tritt schon im zeitigen Frühjahr auf und gegen Ende Juni und Anfang Juli fallen die braun gewordenen Blätter ab.

Stift (Wien).

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Suttor, J.,** Erfahrung mit Milchsäurereinkultur. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. 1896. No. 48. p. 386.)

Verf. berichtet über die günstigen Erfolge, welche er in der ihm unterstellten Brennerei zu Langenzell bei Heidelberg mit der künstlichen Säuerung des Hefegutes mit Hilfe von Reinzuchten des (auch heute noch dort thätigen) *Bacillus acidificans longissimus* erzielt hat.

Während er im Vorjahre, noch nach dem alten Säuerungsverfahren arbeitend, den Säuregehalt des Hefegutes selbst bei 23-stündiger Säuerungsdauer auf höchstens 2° zu bringen vermocht und infolgedessen über schädliche Nebengärungen und schlechte Ausbeute

zu klagen gehabt hat, verläuft nun, seit Einführung der Bakterien-reinzucht, sowohl Säuerung als auch Gärung zu seiner „vollen Zufriedenheit“. Er konnte damit bis zu 3,2° Säure gelangen, so daß also 20 ccm des gesäuerten Hefegutes 3,2 ccm Normallauge zur Sättigung gebrauchen. Die Gärung im Hauptbottich verlief sehr gut. Die vergorenen Maischen — und zwar ebensowohl reine Kartoffel-maischen als auch solche, welche zu einem Drittel mit Dari hergestellt waren — zeigten niemals über 0,5 Proz. Balling, nicht selten aber sogar nur 0,0 Proz. Die Säurezunahme darin hat 0,2° niemals überstiegen.

Dieser Bericht aus der Praxis ist also eine erfreuliche Bestätigung der Angaben über praktische Tauglichkeit, wie sie der Ref., auf Grund zweijähriger Erprobung in der Brennerei zu Hohenheim, im März 1896 auf p. 194—196 des II. Bandes vorliegenden Centralblattes dem *Bacillus acidificans longissimus* zugesprochen hat.

Lafar (Hohenheim bei Stuttgart).

---

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Mohr, C.,** Mitteilungen über die Ursachen von Pflanzenschädigungen durch Insekticide. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. VI. 1896. p. 208.)

Verf. verweist darauf, daß bei der Bekämpfung der Insekten außer der Wirksamkeit des Bekämpfungsmittels die Frage der Schadloshaltung der Blattorgane zunächst in Betracht kommt. Bei Vertilgung von Blattläusen können z. B. bei vielen zarten Pflanzen pflanzliche Insekticide nur dann mit Erfolg gebraucht werden, wenn die Mischung keine ätzenden Ingredienzen enthält. Aber selbst in diesem Falle kann z. B. Tabaksbrühe unter Umständen Brand verursachen, wenn die Besprengungen bei Sonnenhitze und nach anhaltender Dürre erfolgen. Alle diejenigen Produkte, welche aus Teer gewonnen sind oder dem Farbstoffreiche angehören, wirken auf junge und zarte Blätter noch viel nachteiliger als die Pflanzengifte. Die einzige Flüssigkeit, welche selbst bei zarten Pflanzen niemals Brand auf Blättern verursacht hat, ist die vom Verf. hergestellte Glycerinschwefelcalciumlösung in der Verdünnung von 1 auf 20 Teile Wasser.

Stift (Wien).

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

**San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,**  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Galli-Valerio, B.**, Manuale di parassitologia in tavole sinottiche. 16°. 125 p. Milano 1896
- Karsten, P. A.**, Fragmenta mycologica. (Hedwigia 1896. Heft 4. p. 173—174.)
- Pearmain, T. H. and Moor, C. J.**, Applied bacteriology. 8°. 390 p. and plates. London (Baillière, Tindall & Co.) 1896. 12 sh. 6 d.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente u. a. w.

- Czaplewski**, Bemerkungen zur Gram'schen Methode der Bakterienfärbung. Eine zweckmäßige Nachfärbung zur Gram'schen Methode. (Hygien. Rundschau. 1896. No. 21. p. 1029—1037.)
- Kasperek, Th.**, Ein einfacher Luftabschluß flüssiger Nährböden beim Kultivieren anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. 1896. No. 14/15. p. 536—537.)
- Pakes, W.**, An apparatus for counting colonies. (Journ. of pathol. and bacteriol. 1896. July.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

- Bau, A.**, Ueber die Vergärbarkeit der Galaktose. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1896. No. 38. p. 303.)
- Bignami, A.**, Le ipotesi sulla biologia dei parassiti malarici fuori dell' uomo (a proposito di un recente scritto del dott. P. Manson). (Policlinico. 1896. 15. luglio.)
- Boullanger, E.**, Contribution à l'étude de quelques levures de bière. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1896. No. 10. p. 597—607.)
- Durst, O.**, Handbuch der Preßhefefabrikation. 2. Aufl. 8°. XI, 484 p. Mit 190 Textabbildgn. u. 8 Lichtdrucktaf. Berlin (Parey) 1896. 16 M.
- Gérard, E.**, Fermentation de l'acide urique par les microorganismes. (Compt. rend. T. CXXIII. 1896. No. 3. p. 185—187.)
- Goltz**, Zur Biologie der Rinderbriesfliege. (Zeitschr. f. Naturwissensch. Bd. LXIX. 1896. Heft 3/4. p. 235.)
- Hanow**, Ueber Fortschritte in der Spiritus- und Preßhefe-Fabrikation. (Chemiker-Ztg. 1896. No. 90. p. 897—902.)
- Hansen, E. Chr.**, Practical studies in fermentation, being contributions to the life history of micro-organisms. Transl. by A. K. Miller. Illustr. London (Spon) 1896.
- Kasner, G.**, Ueber die alkoholische Gärung der Wachholderbeeren. (Apotheker-Ztg. 1896. p. 584.)
- Krusina**, Versuche über Anstellhefe. (Alkohol 1896. No. 28. p. 433.)
- van Laer**, Können die an sich unvergärbaren Disaccharide bei Gegenwart eines vergärbaren Zuckers vergoren werden? (Bulet. de l'assoc. belge des chimistes. 1896. No. 10. p. 319. — Wchschr. f. Brauerei. 1896. No. 10. p. 230.)
- Lankester, E. B.**, Chlamydomyxa montana n. sp., one of the protozoa gymnomyxa. (Quart. Journ. of microscop. science. 1896. Aug. p. 233—244.)
- Leichmann, G.**, Die Benennung der Milchsäure-Bacillen. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1896. No. 38. p. 305.)
- Loew, O.**, The energy of living protoplasm. 8°. 120 p. London (K. Paul Trench, Trübner & Co.) 1896. 2 sh. 6 d.
- Ottolenghi, S.**, Influenza dei batteri sulla tossicità degli alcaloidi. (Riforma med. 1896. No. 173. p. 267—269.)
- Péré, A.**, Mécanisme de la combustion des corps ternaires par un groupe de microbes aérobies. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1896. No. 8. p. 417—448.)
- Rapp, E.**, Einfluß des Sauerstoffs auf gärende Hefe. (Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. 1896. No. 13. p. 1983.)

- Esse, E.**, Sur une nouvelle Cyanophycée et un nouveau microcoque. (Journ. de botanique. 1896. p. 319—323.)
- Schattenfroh, A.**, Ueber die Beziehungen der Phagocytose zur Alexinwirkung bei Sproßpilzen und Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 3. p. 234—248.)
- Seiter, O.**, Studien über die Abstammung der Saccharomyceten und Untersuchungen über *Schizosaccharomyces octosporus*. [Inaug.-Diss.] 8°. 32 p. Erlangen 1896.
- Teich, M.**, Beitrag zur Kenntnis thermophiler Bakterien. (Hygien. Rundschau. 1896. No. 22. p. 1094—1095.)
- Underwood, L. M. and Earle, F. S.**, The distribution of the species of gymnosporangium in the South. (Botan. Gaz. 1896. p. 255—258.)
- W. B.**, Weinstein und Weinhefe. (Allg. Wein-Ztg. 1896. No. 45. p. 442—443.)
- Will, H.**, Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. N. F. 1896. No. 34. p. 453.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft und Wasser.

- Eijkman, J.**, Jets over bacteriologisch drinkwateronderzoek. (Geneesk. Tijdschr. v. Nederl.-Indië. Deel 36, afdv. 3. 1896. p. 179—207.)
- Maul, E.**, Zur Beurteilung des Trinkwassers. (Münch. med. Wchschr. 1896. No. 45. p. 1101—1103.)
- Ohlmüller, W.**, Die Untersuchung des Wassers. Ein Leitfaden zum Gebrauch im Laboratorium f. Aerate, Apotheker u. Studierende. 2. Aufl. gr. 8°. XI, 178 p. m. 75 Abbildgn. u. 1 Lichtdr.-Taf. Berlin (Julius Springer) 1896. 5 M.
- Reohard, J.**, Les eaux potables. (Rev. d. deux-mondes. 1896. 1. août)
- Seefone, L.**, Esame batteriologico delle acque di neve, di torrente e di lago. (Arch. per le scienze med. Vol. XX. fasc. 3. 1896)

### Boden.

- Richter, L.**, Ueber die Veränderungen, welche der Boden durch das Sterilisieren erleidet. (Die landwirtschaftl. Versuchstationen: 1896. p. 269—275.)
- v. Thümen, N.**, Die Bedeutung der Schmetterlingsblütler als Stickstoffsammler und die Boden-impfung. (Prometheus. 1896. No. 370, 371. p. 81—83, 99—102.)

## Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Grünhut, L.**, Die Einführung der Reinhefe in die Gärungsgewerbe. (Samml. chemischer u. chemisch-technischer Vorträge. Hrg. v. F. B. Ahrens. Bd. I. 1896. Heft 9 u. 10. p. 393—452 m. 8 Abbildgn.) gr. 8°. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1896. 2 M.
- Horton, E. G.**, The disinfection of books by vapor of formalin. (Med. News. Vol. II. 1896. No. 6. p. 152—154.)
- Rosenberg, P.**, Zur Frage der Konservierung von Nahrungsmitteln mit Formaldehyd in verschiedenen Lösungen. (Dtsche med. Wchschr. 1896. No. 46. p. 748.)

### Fleisch.

- Foth, Die Verwertung des Fleisches sinniger Rinder.** (Berl. tierärztl. Wchschr. 1896. No. 37. p. 435—437.)
- Kitt, Th.**, Die Photobakterien und das Leuchten des Fleisches. (Mtsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. VII. 1896. Heft 10. p. 433—456.)
- Ostertag, Neues aus der Fleischbeschau.** Sammelreferat. (Mtsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. VII. 1896. Heft 6. p. 268—282.)

### Milch, Molkerei.

- Möhler, C.**, Beiträge zur Erforschung des Gärungsverlaufes in der Emmenthaler Käsefabrikation. (Schweiz. landwirtschaftl. Centralbl. 1896. Heft 1—4.)
- Baron, C.**, Ueber Verunreinigungen der Kuhmilch und ihre Verhütung. (Allg. med. Central-Ztg. 1896. No. 88, 89. p. 1057—1058, 1069—1071.)
- Nimenthal, F.**, Ueber die Produkte der bakteriischen Zersetzung der Milch. (Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. Bd. CXLVI. 1896. Heft 1. p. 65—85.)

- Frye, M. J.**, Notes upon the estimation of the number of bacteria in milk. (Med. Record. Vol II. 1896. No. 13. p. 442—443.)
- Gorini, C.**, L'igiene del latte e dei latticini in Danimarca. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1896. No. 7/9. p. 269—288.)
- Knebel**, Die Bedeutung der Bakteriologie auf dem Gebiete der Milchwirtschaft. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1896. Heft 3. p. 90—91.)

### Bier, Brauerei.

- Eckhardt, F.**, Wie erkennt man eine Infektion im Brauereibetrieb? (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1896. No. 132—136. p. 2313—2314, 2346, 2363—2364, 2381—2382.)
- Prior, E.**, Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres. (Bibl. f. Nahrungsmittel-Chemiker. Bd. V. 1896.) 8°. X. 597 p. Mit Tab. Leipzig (Barth) 1896.
- Weinwurm, E.**, Welche Faktoren sind auf die Hauptgärung von Einfluß? Mitteil. aus der Lehmann'schen Brauerschule zu Worms. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1896. No. 137. p. 2393.)
- Windisch, W.**, Ueber die Wirkung des Konservessalzes der Firma Dr. Heinrich König & Co. in Dresden auf bakterienkrankes Bier. (Wechschr. f. Brauerei. 1896. No. 46. p. 1201.)

### Wein, Weinbereitung.

- Istruzioni intorno al modo di surrogare o ridurre la gessatura nella vinificazione.** (Bollett. di notizie agrarie. 1896. No. 35. p. 293—296.)
- Kayser, E. et Barba, G.**, Rapport sur les expériences de vinification faites dans le Gard en 1895. (Bulet. du minist. de l'agricult. 1896. No. 4. p. 544—562.)
- Müller-Thurgau**, Ueber neuere Erfahrungen bei Anwendung der Reinhefen in der Weinbereitung. Vortrag. 8°. 21 p. Mainz 1896.
- Wortmann, J.**, Ueber den sogenannten Stopfengeschmack der Weine und seine Bekämpfung. (Weinbau u. Weinhandel. 1896. No. 45, 46. p. 392, 400—401.)

### Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Lindner, P.**, Einige Beobachtungen über den Kornkäfer, die Kornmotte und die Schlupfwespen auf Getreideböden. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1896. No. 46. p. 370—371.)
- Ritthausen, H. u. Baumann**, Ueber Zerstörung von Fett durch Schimmelpilze. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. 1896. p. 389—391.)

### Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Grether, G.**, Betrachtungen zur Frage der Abwasserreinigung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 3. p. 189—230.)
- Boux, G.**, Sur la désinfection radicale des liquides de vidanges par la chaleur en vase clos. (Lyon méd. 1896. No. 32. p. 491—497.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

#### Harmlose Bakterien und Parasiten.

- Nobbe, F.**, Ueber einige neuere Beobachtungen, betreffend die Bodenimpfung mit reinkultivierten Knöllchenbakterien für die Leguminosen-Kultur. (Botan. Sect. d. 68. Versamml. dtsch. Naturforscher u. Aerzte.) (Botan. Centralbl. Bd. LXVIII. 1896. No. 6. p. 171—173.)
- Nobbe, F. u. Hiltner, L.**, Ueber die Anpassungsfähigkeit der Knöllchenbakterien ungleichen Ursprungs an verschiedenen Leguminosengattungen. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. 1896. p. 257—268.)

#### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Aderhold, B.**, Die Fusicladien unserer Obstbäume. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1896. Heft 6. p. 875—914.)
- Altum**, Neuere Beobachtungen über den Kiefernprozessionsspinner, *Cnethocampa pinivora* Tr. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1896. Heft 11. p. 649—652.)

- Berndt, O.**, Der rationelle Obstbau. Praktische Anleitung, nebst einem Anhang über die den Obstbau schädigenden Insekten. III. 8°. 43 p. Berlin (Bontemps) 1896. 0,50 M.
- Boas, J. E. V.**, Dansk forestsoologi. Heft II. 8°. 33 p. 1 tavle. Kopenhagen (Nord. forlag.) 1896. 65 Öre.
- Bredemeier, E.**, La peronospora viticola sotto la cura della creolina concentrata Nava. 8°. 14 p. Pallanza 1896.
- C. A. G. K.**, Der Schachtelhalm als Verbreiter von Krankheiten der Kulturpflanzen. (Landwirt 1896. No. 58. p. 343.)
- Calciumcarbid**, das, als Mittel gegen die Reblaus. (Allg. Wein-Ztg. 1896. No. 45. p. 444—445.)
- Döring**, Die Bekämpfung der Rüben nematode. (Landwirt. 1896. No. 59. p. 349.)
- Foëx, G.**, Le black rot. Notes recueillies dans le Lot-et-Garonne, le Gers et les Landes. (Rev. de viticulture. 1896. No. 152. p. 478—484.)
- Galloway, B. T.**, Spraying for fruit diseases. (Farmers' Bullet. 1896. No. 38.) 8°. 12 p. Washington 1896.
- , Einige wichtige Pflanzenkrankheiten in den Vereinigten Staaten, sowie deren Bekämpfung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. Heft 3. p. 174—178.)
- Gommose bacillaire**, die entlarvt, in der Arader Weingegend. (Weinlaube. 1896. No. 38. p. 445.)
- Groß, G.**, Ueber das Einsammeln des Rüsselkäfers. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1896. p. 136.)
- Hellriegel**, Der Einfluß des Nematodenschadens auf die Zusammensetzung der Zuckerrüben. (Zeitschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Sachsen. 1896. p. 98.)
- Hennings, P.**, Ueber eine auffällige Zellenkrankheit nordamerikanischer Abiesarten im Berliner botanischen Garten, verursacht durch *Pestalotia tumefaciens* F. Henn. n. sp. (Verhandl. d. botan. Vereins d. Prov. Brandenburg. 1895. p. XXVI.)
- Insects**, some Mexican and Japanese injurious, liable to be introduced into the United States. U. S. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. 8°. 56 p. Washington 1896.
- Italiani**. Regio decreto n. 392 che regola la importazione e il transito nelle e per le provincie di Alessandria, Brescia, Mantova e Verona delle materie atte a diffondere la fillossera, provenienti da comuni infetti o sospetti, dato 19 agosto 1896. (Bollett. di notizie agrarie. 1896. No. 35. p. 280—281.)
- Landwirtschaftskammer**, die, für die Provinz Sachsen und die Vorschläge des Prof. Dr. Frank-Berlin, betr. die Bekämpfung der Herz- und Trockenfäule der Zuckerrüben. (Landwirt. 1896. No. 58. p. 344.)
- Lippert, Chr.**, Beitrag zur Bekämpfung des Rübenkäfers (*Cleonus punctiventris* Germ.). (Oester. landwirtschaftl. Wechbl. 1896. p. 123.)
- Neger, F.**, Die Rostkrankheit der blattwechselnden antarktischen Buchen (*Melampsora fagi* Diet. et Neg.). (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschr. 1896. p. 69.)
- Rassegna crittogamica** nei mesi di aprile, maggio e giugno 1896. Relazione del Direttore del R. Laboratorio di botanica crittogamica in Pavia, Prof. G. Briosi. (Malattie della vite. p. 254. — Malattie delle graminacee. p. 257. — Malattie delle piante da frutto. p. 258. — Malattie di piante diverse. p. 259.) (Bollett. di notizie agrarie. 1896. No. 34. p. 254—262.)
- Rathay, E.**, Ueber ein schädliches Auftreten von *Eudemis botrana* in Niederösterreich. (Weinlaube. 1896. No. 35, 38. p. 409, 447.)
- Reblaus**, die, Wurzellaus des Weinstocks. (Illustr. landwirtschaftl. Ztg. 1896. No. 89. p. 690.)
- Rémy**, Der Hirsezünsler *Botis nubilalis*. (Wechschr. f. Brauerei. 1896. No. 46. p. 1203.)
- v. Renesse, A. u. Karus, L.**, Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturgewächse und deren Verhütung. (Landwirtschaftl. Ztg. 1896. p. 21.)
- Rovara, F.**, Der punktbauchtige Hohlrüßler, *Cleonus punctiventris* Germ. (Wien. landwirtschaftl. Ztg. 1896. p. 264—272.)
- Sajó, C.**, Ueber das Auftreten einer neuen Kartoffelkrankheit. (Zeitschr. f. Spiritus-industrie. 1896. No. 33. p. 263.)
- Sieha**, Ringelspinner. (Obstgarten. 1896. No. 11. p. 163—165.)
- Swingle, W. F. and Webber, H. J.**, The principal diseases of citrus fruits in Florida. (U. S. Departm. of Agriculture. Division of veget. phys. and pathol. Bullet. No. 8.) 8°. Washington 1896.

- Swingle, W. T.**, Bordeaux mixture: its chemistry, physical properties and toxic effects on fungi and algae. (U. S. Departm. of Agriculture, Division of veget. physiol. and pathol. Bullet. Vol. V. p. 1—51.)
- Terasch, J.**, Sommer-, Herbst- und Frühljahrsbehandlung gegen die Chlorose. (Weinlaube. 1896. No. 45. p. 530—531.)
- Vaňha, J. u. Stoklasa, J.**, Die Rübenennematode Heterodera, Dorylaimus und Tylenchus. Mit Anhang über die Enchytraeiden. 8°. Berlin (Parey) 1896.
- Wagner, G.**, Gloeosporium myrtilli Allesch. nov. spec., ein gefährlicher Feind von Vaccinium Myrtillus. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. Heft 4. p. 198—199.)
- Wakker, J. H. en Went, F. A. C.**, Oversicht van de ziekten van het suikerriet op Java. (Sep. Arch. Java-suikerindustrie. 1896. Aflav. 9.) 8°. 11 p. Soerobaja 1896.

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Beck, A. B.**, Apparat zum Desinfizieren durch Dampf. D. P. 88 600 v. 12. Nov. 1895 Kl. 80. (Ber. d. dtsh. Chem. Gesellsch. 1896. No. 16. p. 924.)
- Schattenfroh, A.**, Ueber die Wirkung der stickstoffwasserstoffsäuren Salze auf pflanzliche Mikroorganismen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 3. p. 231—233.)
- Walsh, J. J.**, A note on the inhibitory action of acetanilid on bacterial growth. (Med. News. Vol. II. 1896. No. 7. p. 174—176.)
- Willoughby, E. F.**, Disinfection; real and illusory. (Med. magaz. 1896. Oct. p. 995—1009.)

### Inhalt.

#### Originalmitteilungen.

- Beijerinck, M. W.**, Emulsions- und Sedi-  
mentfiguren bei beweglichen Bakterien.  
(Orig.), p. 1.
- Frank**, Ueber die Ursachen der Kartoffel-  
fäule. (Orig.), p. 13.
- Peglion, Vittorio**, Bacteriosi del gelso.  
(Orig.), p. 10.
- Stutzer, A. u. Hartleb, E.**, Der Salpeter-  
pilz. (Orig.), p. 6.

#### Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

- Will, H.**, Einige Beobachtungen über die  
Lebensdauer getrockneter Hefe. (Orig.),  
p. 17.

#### Referate.

- Boullanger, M. E.**, Contribution à l'étude  
de quelques levures de bière, p. 23.
- Ehle, A.**, Ueber das Blauwerden der Käse,  
p. 25.

- Kaßner, G.**, Ueber die alkoholische Gärung  
der Wachholderbeeren, p. 25.

- Lafar, Franz**, Technische Mykologie, Bd. I.,  
p. 22.

- Lyons, Robert E.**, Ueber den Einfluß eines  
wechselnden Traubenzuckergehaltes im  
Nährmaterial auf die Zusammensetzung  
der Bakterien, p. 22.

- Wagner, G.**, Gloeosporium Myrtilli Allesch.  
nov. spec., ein gefährlicher Feind von  
Vaccinium Myrtillus, p. 26.

#### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Suttor, J.**, Erfahrung mit Milchsäurerein-  
kultur, p. 26.

#### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Mohr, C.**, Mitteilungen über die Ursachen  
von Pflanzenschädigungen durch Insekti-  
cide, p. 27.

Neue Litteratur, p. 28.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie und  
Pflanzenpathologie.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Willfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 13. Februar 1897.**

**No. 2/3.**

---

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## **Original-Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

**Fermentative power.**

**An answer to criticism by M. E. Duclaux.**

By

**Adrian J. Brown**

in

**Burton-on-Trent.**

In a paper on the Influence of Oxygen on Alcoholic fermentation (J. Chem. Soc. 1892. 61. 369), I described some experiments which appeared to be in disagreement with M. Pasteur's well



known theory that fermentation is a consequence of "life without air". I was subsequently lead to study this question further, and as a result I published a second paper (J. Chem. Soc. 1894. 65. 911), in which I brought forward evidence to show that the argument on which Pasteur rested his theory was unsound, and that consequently his theory was untrustworthy.

Until last year the views advanced in these papers remained unanswered, but in the February and March numbers of the *Annales de l'Institut Pasteur* (Vol. X. Nos. 2 and 3. 1896), M. Duclaux published a criticism entitled "*Le pouvoir ferment et l'activité d'une levure*" which is intended to meet the objections I have raised against Pasteur's theory. The general purport of this criticism is to show that my objections have no reality, and that my experiments, instead of contradicting Pasteur's theory, really uphold and strengthen it. In the same review Duclaux also criticises work of Giltay and Aberson (*Pringsheim's Jahrbücher*. T. XXVI. p. 543), but with this I am not concerned, the object of my present paper only refers to Duclaux's criticism of my own work, to which I now propose to respond.

In answering Duclaux's criticism I am however precluded from doing so in the direct manner I should like, owing to the way in which Duclaux has treated his subject. The one point on which the whole question in dispute turns, so far as I am concerned, is the accuracy of Pasteur's determinations of fermentative power. Pasteur's theory depends absolutely on the question of his determinations of fermentative power being independent of time, and he himself insists on this point over and over again. A brief consideration of his arguments, to which I shall refer later on, is sufficient to put this matter beyond all doubt. Now in my previous papers which M. Duclaux professes to criticise, the whole drift of my experiments and arguments point to the fact that Pasteur committed an error in supposing that his determinations of fermentative power are unaffected by time. It is a simple point in a simple question, and the right or wrong of the matter should be capable of clear discussion. But M. Duclaux will have none of this; he does not take any of my principal arguments and show their error — on the contrary he avoids them altogether and instead, plunges into a long, so called explanation, of Pasteur's views, which contains statements that cannot be right if Pasteur's conceptions are adopted in their entirety. The side issues which are introduced in Duclaux's clever criticism are numerous in the extreme, but there is nothing definite on the one point in Pasteur's theory which I have attacked and which he professes to defend. I refuse to be lead into any of the side issues and complications which Duclaux brings forward. The one point to settle in whether or no Pasteur's argument as advanced by Pasteur, is right or wrong. This is the point I have attacked before, and, as my answer to Duclaux, this is the point I propose to attack again.

Before doing so however, it appears desirable first to call to

mind briefly the salient points of the arguments advanced by Pasteur is support of his theory.

The evidence which lead Pasteur to adopt his remarkable theory was derived from experimental determinations under varying conditions of aëration of, what he denominates, the fermentative power of yeast. The fermentative power of yeast, according to Pasteur's definition, is expressed by the proportion of sugar decomposed to the weight of yeast which has decomposed it; that is to say the weight of decomposed sugar divided by the weight of yeast formed gives a number expressing the fermentative power of the yeast. Symbolically, fermentative power, according to Pasteur, may be represented by  $\frac{S}{l}$ , where  $S$ , represents the sugar fermented, and  $l$ , the yeast formed.

The only direct experimental proof of Pasteur's theory rests on the evidence furnished by determinations of fermentative power made in the manner just described. He found from the results of his experiments, that the fermentative power of yeast out of contact with air was very great, and that it was very feeble when under the influence of air, consequently he concluded that he had found experimental proof for his theory that fermentation is a consequence of life without air.

In considering Pasteur's experiments, it must be carefully born in mind that the time during which the experiments were carried on does not enter into his determinations of fermentative power. Pasteur looks on fermentative power as a something akin to mechanical work, into the idea of which time does not enter. He takes, as an illustration of the kind of work he means, the case of a heavy weight being lifted to the top of a building, and points out, that in such an operation, the energy required to lift this weight is the same, no matter how long or short a time the act takes. A full statement of his views on this subject will be found in his "Etudes sur la bière". p. 245, where he answers some objections raised by Schützenberger against his theory. Pasteur maintains there in the most unequivocal manner, that time does not enter into his conception of fermentative power in any way, and that it is independent of it. A brief consideration of his argument is in itself sufficient to place this beyond doubt, for he treats the fermentative powers of yeast derived from fermentations that have continued for times varying from a few hours to three months, as comparable, without considering the time of fermentation in any way.

Pasteur states that if the time of a fermentation is taken into consideration together with the sugar fermented and yeast formed, that what is thus determined is the fermentative activity of the yeast, a something quite distinct from its fermentative power. Fermentative activity he defines as the weight of sugar decomposed by the unit weight of yeast in the unit of time; therefore it may be represented by  $\frac{S}{lt}$ , where  $t$  represents the time of

fermentation, and  $S$ , and  $l$ , the sugar decomposed and the yeast formed.

So on the completion of any fermentation experiment, according to Pasteur's definitions, the weight of sugar fermented divided by the yeast formed, will give the fermentative power of the yeast according to the expression  $\frac{S}{l}$ ; whilst the sugar fermented divided by the weight of yeast and time of fermentation, gives its fermentative activity  $\frac{S}{lt}$ .

Having called to mind briefly Pasteur's own conceptions of the fermentative power, and activity, of yeast, I will now examine them from another point of view. — Pasteur regards fermentative power, or the power yeast exerts in decomposing sugar, as akin to mechanical work, such as lifting a weight, into a measure of which time does not enter. If this view of the question is adopted, there is not doubt that Pasteur's conception is quite correct. But, when considering his argument, it must be born in mind that not only does he state that time is excluded from his conception of fermentative power, but he also holds that time does not enter into his measures of fermentative power. Now obviously a conception of the nature of an action, and a measurement of this action, are two very different things; — one may be quite correct when the other is hopelessly wrong. It is one thing when Pasteur states that his conception of fermentative power is independent of time, and quite another when he considers his mode of measuring this power gives a result that is independent of time. — I wish to call particular attention to this simple question, for I believe confusion of the two essentially different points I have just mentioned, in which Pasteur is right in one and wrong in the other, has lead to the question of fermentative power being so thoroughly unintelligible.

All I wish to show, when proceeding to examine Pasteur's method of determining fermentative power, is that he is wrong in considering that the influence of time is excluded from his experiments. I grant his conception of fermentative power in the abstract is correct, but his theory of fermentation is founded on his experiments, not on his conceptions. If his experiments are not what he considers them to be, his theory fails for want of proof.

Let us now consider the relation yeast bears to the sugar it ferments, adopting Pasteur's own view for the purpose of argument, although I do not hold it myself. — Pasteur regards yeast as in some manner the producer of power by which sugar is decomposed into two main products, — alcohol and carbonic acid, and assumes that he can measure this power produced by the yeast, by dividing the weight of the yeast,  $l$ , into the sugar decomposed,  $S$ , — the measure found being quite independent of the time taken by the yeast to decompose the sugar.

But Pasteur, when attempting to calculate his fermentative powers by this method, has quite overlooked the fact that a yeast

cell, like other living organisms, does not produce energy directly but merely transmits it. The energy necessary to carry on the life work of living organisms comes from the aliment they consume; the action of their functions, so far as the organisms are concerned, is a continuous action and may be compared to the working of an engine fed with fuel. The work, or energy to do work, comes from the fuel; it is merely transmitted through the engine, and therefore the engine has nothing to do directly with the amount of energy it transmits, if time is left out of account. The fuel supplied to the engine has a direct relation to the work done by the engine if time is not taken into consideration, but not the engine itself. The work done by the engine is a continuous phenomenon of transmitted energy, and time must be taken into consideration if a proportionate measure of work done by the engine is required. The power of an engine is measured in what are called, technically, "horse-powers"; and a "horse power" is work equal to lifting 33,000 lbs., one foot in one minute of time. This expresses what Pasteur would have called "activity".

The error Pasteur commits, in attempting to estimate fermentative power, originates from the overlooking of the facts just referred to. The decomposition of sugar by a yeast cell is a continuous function so far as the cell is concerned, consequently it must be dependant on time like all continuous phenomena.

Let us consider the expressions  $\frac{S}{t}$ , representing Pasteur's fermentative power, in which he says time does not enter, and also  $\frac{S}{t}$  representing Pasteur's activity, or the sugar fermented in the unit of time. It is obvious that both the activity, and fermentative power of the yeast in any selected fermentation experiment can be determined, so long as we know the weight of sugar fermented and of the yeast formed, and the length of time of the fermentation. When determining the activity,  $\frac{S}{t}$ , we find the average amount of sugar decomposed by an unit weight of yeast in an unit of time; but when determining the fermentative power,  $\frac{S}{t}$ , where  $t$ , the time is left out, it is very plain that if the influence,  $t$ , was exerted in the experiment we are discussing, the result we arrive at from our calculation of so called fermentative power, is the weight of sugar decomposed by an unit of yeast through all the units of time during which the experiment has been carried on; we have simply left out  $t$ , as a divisor in our calculation, but its influence has been exerted in the experiment all the same. The only difference in the two expressions  $\frac{S}{t}$ , and  $\frac{S}{t}$ , representing the same fermentative change, is that in one case time is taken into account, and in the other it is omitted, and yet the experimental result and its causes, on which both are founded, are identical. Time

enters into and governs the results from which Pasteur calculates his fermentative powers, but he neglects to consider it, consequently his calculation are fallacious.

It is as hopeless to attempt to measure Pasteur's fermentative power of yeast by the means he adopts, as it is to attempt to measure the power of a man to break stones, by determining the proportion the stones broken bear to him. The case is strictly analogous as an exhibition of work. Suppose we ascertain that two men working together have broken 16 tons of stone, and two other men have broken 4 tons, the time during which they have been occupied on their task being disregarded; and let us use Pasteur's formula  $\frac{S}{l}$  to calculate their stone breaking power. If  $S$ , represents the stones broken, and  $l$ , the number of men who broke the stones, then in the one case we arrive at  $\frac{16}{2}$ , and in the other  $\frac{4}{2}$ ; or the stone breaking power of a man in the first case is 8, and in the second 2. But of course it is perfectly clear that such figures have no meaning whatever, for if time is left out of account how do we allow for the fact that the first two men were employed on their task four times longer than the other two? Undoubtedly the mechanical work involved in breaking a ton of stones is the same however long or short a time the process takes, but it is absurd to attempt to measure the production of a man's power to do this work, without taking time into account.

Perhaps the clearest way to demonstrate that time governs Pasteur's determinations of fermentative power, is to make use of some of the mathematical formulae employed by Duclaux himself in his criticism. Although, they are not intended for any such purpose, I shall take the liberty of using them. Duclaux says, let the activity of yeast be considered as the quantity of sugar an unit weight of yeast decomposes in an unit of time, and admit, in order to simplify the question, that the activity is constant during fermentation. Then the quantity of sugar decomposed during a time,  $t$ , by a quantity of yeast,  $l$ , is evidently  $a l t$ , if  $a$  represents the activity of the yeast.

But  $a l t$ , does not represent quite all the sugar decomposed, as a small part has gone to form the substance of the yeast,  $l$ , — For certain reasons into which Duclaux does not think it necessary to enter, he concludes that the weight of sugar thus used up approximates very closely to the total weight of the yeast,  $l$ , and may be represented by  $m l$ ,  $m$  being a factor nearly approaching unity. So by adding  $m l$ , to  $a l t$ , the total weight of the sugar decomposed,  $S$ , is obtained.

$$S = ml + alt.$$

But as the fermentative power of yeast is the proportion  $\frac{S}{l}$ , if fermentative power is represented by  $p$ , it will be found that

$$p = m + at.$$

That is to say  $p$ , the fermentative power of yeast, is its activity multiplied by the time of fermentation, plus the small factor  $m$ .

So M. Duclaux's own mathematics confirm what I have shown before, — that time enters into and controls Pasteur's determinations of fermentative power, but he has failed to take it into account, and so rendered the arguments based upon them useless and misleading. However free his conceptions of fermentative power may be from the influence of time, most certainly his experiments are not.

It is unnecessary for me to say more on this point as Duclaux's own proof of it is so very clear; I will however make a short reference to the multiplication in number of yeast cells during the early stages of fermentation, which to some minds is a complicating factor in the question of fermentative power. I have not done so before as it does not affect my argument in the least, and might have made it appear less simple.

In a fermentation as ordinarily carried on, yeast cells multiply rapidly at first, their rate of multiplication gradually slackening until it ceases altogether. Meanwhile fermentation continues during the existence of each individual cell so long as there is fermentable sugar in the liquid. Obviously, as fermentation is a continuous function of the yeast cell, those cells which come into existence first will have a longer time at their disposal to decompose sugar than those cells which are formed later, but the time factor rules the whole process for each individual cell however long or short an existence it may have. The ultimate result of a fermentation is the total effect of all the cells concerned, but time controls the ultimate result just as it controls the action of each individual cell concerned.

M. Duclaux says at the commencement of his criticism, that the notion of fermentative power which Pasteur has introduced to science, appears to be difficult to understand. This is very true; but it is not to be wondered at if there is contradiction and error in the very principles of Pasteur's definition. He commences, as I, have shown with a conception of fermentative power having nothing to do with time, and attaches this idea to experimental results in which time is a ruling factor but is ignored. If an illusion such as this is accepted as truth, confusion and misunderstanding are sure to creep in wherever it appears.

I do not think the question of the right or wrong use of Pasteur's "fermentative power" would be of sufficient importance itself to justify the amount of discussion to which it has given rise from time, were it not for the very great influence the idea has on the view in which fermentation is regarded by most workers. Not only does an important and widely accepted theory depend on Pasteur's conception and mode of determining fermentative power, but it exercises a strong influence on almost all questions concerning fermentation. In considering the results of experiments on fermentation, according to common belief, one of the cardinal principles involved is, that all conclusions must be in harmony with Pasteur's conception of fermentative power, — if not they are worthless and must

be cast aside. It is evident however if this view is wrong, that the consequence of our misplaced faith is to cripple reason and arrest the progress of knowledge. At the present time I believe our advance to the better understanding of the phenomenon of fermentation is being seriously retarded by the faith which centres round Pasteur's theory and his erroneous measures of fermentative power on which it is based. The expression fermentative power as advanced by Pasteur should be abandoned altogether, for according to his conception of its meaning it can never be applied to experimental work with living organisms. Let this be done, and let the use of fermentative activity be retained to express the fermentative power of an organism in an unit of time, — and then I believe we shall be in a better position than now to attack the many difficulties involved in the question of fermentation.

In concluding this paper, I particularly desire that it may not be considered in anyway as a disloyal attack on the memory or work of the great master, Pasteur, who has so recently been laid in his last resting place. Nothing is further from my mind, for no one reverences his memory or his work more than I do myself. Honest reasoning in the interest of truth cannot be disloyalty to the memory of the great man, who took as his motto, "Le plus grand dérèglement de l'esprit est de croire les choses parce qu'on veut qu'elles soient!"

Jan. 5 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Emulsions- und Sedimentfiguren bei beweglichen Bakterien.

Von

M. W. Beijerinck  
in Delft.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

(Schluß.)

### 2. Beschreibung von *Bacterium Termo*.

Von den bisher darauf geprüften beweglichen Arten haben sich mehrere „Wasserbakterien“ als besonders geeignet für die Erzeugung der Figuren ergeben. Eine der allgemeinsten davon wünsche ich als *Bacterium Termo* zu bezeichnen, weil sie gut übereinstimmt mit den älteren Beschreibungen und Abbildungen, welche unter diesem Namen veröffentlicht sind, während ich keine neuere Beschreibung kenne, welche darauf ganz paßt; vielleicht ist *Bacillus punctatus* Zimmermann <sup>1)</sup> davon nur eine Varietät. Da ich mit dieser Bakterie alle

1) Bakterien der Chemnitzer Wasserleitung. Tl. I. p. 38. Chemnitz 1890. Der Name „*punctatus*“ deutet eben auf die Leichtigkeit, womit diese Bakterie punktförmige Ansammlungen, d. h. Emulsionsfiguren erzeugt.

die im folgenden zu besprechenden Versuche ausgeführt habe, scheint es erwünscht, davon eine Diagnose vorausszuschicken:

**Bacterium Termo.** Kurzstäbchen, im Mittel  $1\frac{1}{2}$   $\mu$  lang, 1  $\mu$  breit mit abgerundeten Enden und einer einzigen endständigen Geißel (monotrich). Bisweilen längere Stäbchen. Immer sehr stark und lange ausdauernd beweglich, im mikroskopischen Präparate selbst noch dann, wenn die Luft  $\frac{1}{4}$  Stunde und länger abgeschlossen ist. Atmungsfigur <sup>1)</sup> sehr prononciert Aërobientypus mit breitem bakterienfreiem Felde <sup>2)</sup>.

Wachstum temporär anaërobisch <sup>3)</sup>. In tiefen Fleischbouillon-gelatineschichten, in Eprouvetten, viel Gas erzeugend. Auf Fleischagar entsteht das Gas schon in den gewöhnlichen Reagentienröhrkulturen, sobald nur einzelne Bakterien zwischen Glas und Agar angelangt sind <sup>4)</sup>. Das Gas ist ein Gemisch von Kohlensäure und Wasserstoff in veränderlichen Verhältnissen. Glukose, Lävulose, Maltose, Rohrzucker, Glycerin, Galactose, Mannit und Dextrin vergären besonders leicht, Lactose viel schwieriger, Raffinose und Calciumlactat überhaupt nicht.

Temperaturoptimum für das Wachstum zwischen 20 und 25° C; bei 30° C schon sehr stark geschädigt unter erblicher Wachstumschwächung und veränderter Enzymbildung.

Sporenbildung findet nicht statt.

Nährgelatine wird stark und vollständig verflüssigt, wobei kaum stinkende Produkte entstehen; flüchtige Schwefelverbindungen nicht beobachtet. Indolbildung meistens sehr deutlich. Macht den Kulturboden schwach alkalisch.

**Bacterium Termo** findet sich allgemein auf untergetaucht lebenden Wasserpflanzen. Bringt man z. B. einen Zweig von *Elodea canadensis* oder *Ceratophyllum* in eine Reagentienröhre, übergießt mit Fleischpeptongelatine, bis der Zweig ganz untergetaucht ist und läßt erstarren, so wird man nach ein paar Tagen in der Tiefe da und dort an der Epidermis der Pflanze schnell verflüssigende Kolonien entstehen sehen mit charakteristischer Gasentwicklung. In den von mir untersuchten Fällen fand ich bei dieser Versuchsanstellung, zu meiner Ueberraschung, meistens keine anderen Bakterienarten wie *B. Termo* auf den kräftigen Zweigen von *Elodea canadensis* im Juni). *B. Termo* überlebt Eintrocknen nicht und wurde nicht in Erde und Staub gefunden.

1) Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Bd. XIV. 1893. p. 839.

2) Die Breite des bakterienfreien Bandes oder Feldes in den Atmungsfiguren wird bedingt durch die Dauer der Beweglichkeit, womit diese Breite steigt und fällt.

3) Der Name „facultativ anaërobisch“ ist verwerflich und soll durch „temporär anaërobisch“ ersetzt werden, weil die sogenannten „facultativen“ Anaëroben nur zeitweise ohne Sauerstoff wachsen können. Wenn es Bakterien gäbe, welche andauernd ebenso gut mit wie ohne Sauerstoff leben könnten, so wäre darauf der Name „permanent-fakultative Anaëroben“ oder kurz „fakultative Anaëroben“ anwendbar. Früher meinte ich, daß hieher die Milchsäurefermente der Gärungsindustrie gehörten, doch bin ich darüber wieder in Zweifel geraten und ich glaube gegenwärtig, daß eine solche Gruppe nicht existiert.

4) Fleischagar erzeugt bei Gärung ceteris paribus viel mehr Gas wie Fleischgelatine, offenbar durch Zuckerbildung aus dem Agar infolge der Präparation.



Solange ich mein *Bact. Termo* noch nicht genau mit *Proteus vulgaris* Hauser<sup>1)</sup> verglichen hatte, glaubte ich, beide könnten identisch sein. Das ist jedoch, wie aus meiner Beschreibung erhellt, durchaus nicht der Fall, denn *Proteus vulgaris* ist peritrich (d. h. über die ganze Körperoberfläche mit Geißeln besetzt), kaum beweglich, kein oder nur ein schwacher Gärungserreger und ein Sulfidbildner, welcher als spezifischer Fäulnisbewohner auftritt. Emulsionsfiguren erzeugt *Proteus vulgaris* in Ueberstimmung mit seiner schwachen Beweglichkeit gar nicht.

Die Emulsionsfiguren von *Bacterium Termo* bestehen bei sehr aktiven Kulturen, d. h. wenn alle Individuen beweglich sind, aus feinen Säulchen<sup>2)</sup>, welche entweder frei die Flüssigkeitsschicht durchqueren oder seitlich miteinander zu Platten und Rippen verbunden ein verzweigtes oder netzartig zusammenhängendes System erzeugen. Erst bei längerem Stehen sinken die Säulchen allmählich zu Boden, bleiben jedoch auch dann, ähnlich wie in § 1 beschrieben, durch eine bakterienarme Flüssigkeit seitlich voneinander getrennt und erzeugen eine Sedimentfigur. Da das Säulchenstadium für die fernere Versuchsanstellung am besten geeignet ist, soll man sich mit der Lupe überzeugen, daß dieses sich gebildet hat. Von oben gesehen zählte ich meistens 70—100 Säulchen pro qcm; die Dicke der Säulchen ist hier also viel dünner wie 1 mm. Bei *B. punctatus* und *B. perlibratus* sind die Säulchen dicker. Hat die Emulsionsfigur sich sehr ruhig gebildet, so können die Säulchen so regelmäßig angeordnet sein, daß die Figur einigermaßen an eine riesige Diatomeenschale erinnert. Jede Strömung während der Ausbildung, jedes Staubeilchen, welches auf die Flüssigkeit fällt, stört die Regelmäßigkeit der Anordnung, wobei gewöhnlich mehrere Säulchen seitlich miteinander verschmelzen und Plattensysteme erzeugen, welche auf allerlei komplizierte Weisen miteinander zusammenhängen. Werden die Ansammlungen dicker, so sind die Säulchen oft hohl, und bisweilen findet sich in der Höhlung eine zweite Ansammlung.

Indem ich nun zu einer näheren Betrachtung der Verhältnisse bei *Bacterium Termo* übergehe, welche sich durch die lange andauernde Beweglichkeit als ein besonders geeignetes Versuchsmaterial herausgestellt hat, wünsche ich noch vorher zu bezmerken, daß ich aus Wasser und Erde noch mehrere andere ebenso vorzügliche Bakterienarten isoliert habe, doch glaube ich, daß *Bacterium Termo* besonders leicht aus der freien Natur in die Hände der Bakteriologen kommen<sup>3)</sup> und am ehesten zur Wiederholung der einfachen und lohnenden Versuche veranlassen wird.

1) Bei Lehmann und Neumann, Bakteriologische Diagnostik. p. 243. München 1890, als *Bacterium vulgare* beschrieben. Mein *Proteus*material erhielt ich durch die Güte des Herrn Král aus Prag. Es stammt vielleicht von Hauser's Originalkulturen.

2) Von obenauf gesehen, deshalb aus Punkten oder kleinen Zirkelflächen.

3) Laboratoriumskulturen vor 2 Jahren isoliert, sind noch ebenso brauchbar wie ganz frische.

### 3. Durch Strömungen bedingte Veränderungen in den Figuren.

Daß ein so zartes Gebilde wie ein aus in Flüssigkeit schwebenden Säulchen gebildetes Netz, dessen Bausteine bewegliche Bakterien sind, ein empfindliches Reactiv auf gewisse Aenderungen im umgebenden Medium sein konnte, war zu erwarten. Meine Hoffnung, darin makroskopisch sichtbare tonotaktische<sup>1)</sup> und chemotaktische Wirkungen erzeugen zu können, hat sich jedoch nur teilweise verwirklicht, was hauptsächlich mit den eigentümlichen Verwandlungen zusammenhängt, welche die Figuren durch Strömungen in der Flüssigkeit infolge der Konzentrationsänderung erfahren, und welche die tonotaktischen und chemotaktischen Erscheinungen mehr oder weniger verdecken. So viel steht aber fest, daß in genügend aktiven Emulsionsfiguren Tonotaxis und Chemotaxis sicherlich unter Umständen beobachtet werden können.

Allein wenn es gelingen sollte, den Einfluß der Strömungen auf die Figuren gänzlich zu beseitigen, auch dann würden noch nicht alle Schwierigkeiten überwunden sein zur richtigen Beurteilung der tonotaktischen und chemotaktischen Vorgänge, denn dieselben treten unter Umständen, trotz der Strömungen mit genügender Deutlichkeit hervor, um zu beweisen, dass diejenigen Nebenverhältnisse, durch deren Kenntnis der Erscheinung Konstanz gegeben werden könnte, noch nicht zu beherrschen sind. Als solche Nebenverhältnisse kommen die vorhergehenden Kulturbedingungen besonders in Betracht. Offenbar können verschiedene Nährstoffe im Bakterienkörper aufgespeichert werden (eben wie der Sauerstoff) und Unempfindlichkeit für bestimmte Stoffgruppen bedingen sowohl in osmotischer wie in chemotaktischer Hinsicht. Nur dann, wenn die Flüssigkeit eine lokale Herabsetzung der Konzentration erfährt, entsteht ein sehr konstanter tonotaktischer Effekt. Konzentrationserhöhungen geben in vielen Fällen jedoch entweder nur zu Strömungserscheinungen allein Veranlassung, oder, wenn sich dazu Tono- oder Chemotaxis gesellen, sind diese, so weit meine Versuche bis heute lehren, nur selten deutlich<sup>2)</sup>.

Die Strömungserscheinungen entstehen, wenn man irgend ein Krystall eines nicht giftigen Körpers<sup>3)</sup> oder einen Tropfen einer Lösung davon in die dünne Schicht der Bakterienkulturen bringt (*b* und *d* Fig. 1 und 2 Taf. I, *b* im Holzschnitt). Ein Kochsalz-, ein Zuckerkrystall darin zu Boden liegend, löst sich unter Erzeugung eines kleinen schweren Flüssigkeitsberges höherer Konzentration wie die Umgebung, und der infolge seines Gewichtes seitlich abgelenkt; dieser Gleitbewegung wird durch die Diffusion geholfen. In der Nähe muß demzufolge eine Rotation in der Flüssig-

1) „Tonotaxis“ — Empfindlichkeit für osmotische Verschiedenheiten.

2) Wie man sieht, liegt hier eine Frage vor, womit sich vielleicht weitere Studien mit Frucht werden beschäftigen können. Wichtig bei allen hier in Betracht kommenden Verhältnissen ist der eben bei der Methode der Emulsionsfiguren erreichte gleichmäßige Sauerstoffzutritt, welcher bei Bewegungsversuchen unter Deckglas oder in Kapillären so schwierig zu beherrschen ist.

3) Gifte vernichten die Figuren sogleich und vollständig.

keit stattfinden derweise, daß im Centrum ein absteigender, an dem Rande ein aufsteigender Strom sich bewegt. Diese Rotation stört die Emulsionsfigur auf eine höchst eigentümliche und sehr zierliche Weise, welche hauptsächlich in einer radialen Anordnung der Emulsionsplatten resultiert, während die Seitenverbindungen und die tangential gestellten Platten so weit gedreht werden, daß sie ebenfalls radial zu stehen kommen. Ferner führt der Rotationsstrom fortwährend Bakterien aus der Peripherie nach dem Centrum, wodurch eine centrale Bakterienanhäufung entsteht.

Der Effekt bleibt Stunden, ja ein paar Tage lang sichtbar, wodurch minimale Spuren hineingebrachter löslicher Körper angezeigt werden. Die Erscheinung ist empfindlich genug, um zu einer annähernden Bestimmung des relativen spezifischen Gewichtes der verwendeten Flüssigkeit Veranlassung zu geben. Sehr viele Körper verhalten sich in Bezug auf die Emulsionsfiguren wie Kochsalz, d. h. sie erzeugen darin nur Strömungserscheinungen, welche kaum, und nur in sehr aktiven Kulturen, mit tonotaktischen Wirkungen gepaart sind.

#### 4. Durch Verdünnung bedingte Veränderungen.

Bringt man einen Wassertropfen auf eine Emulsionsfigur (c im Holzschn., a in Fig. 1 u. 2 Taf. I), so kommt sehr bald darin eine tiefgreifende Veränderung: die Emulsionsfigur geht ganz verloren und anstatt derselben entsteht eine homogene Trübung. Unter Umständen, jedoch nicht immer, läßt sich dabei eine sehr deutliche Anhäufung der Bakterien in der Peripherie, Verminderung derselben im Centrum des Feldes konstatieren. Wie gesagt, kann diese Anhäufung jedoch ausbleiben, wodurch dann ein vollkommen homogenes Bakterienfeld anstatt der Emulsionsfigur resultiert (c im Holzschnitt). Auch diese Erscheinung beruht wohl zum Teil auf Strömungen, welche durch das geringere spezifische Gewicht des hinaufgelegten Tropfens verursacht werden und welche eine Rotation hervorrufen müssen, derweise, daß an der Oberfläche ein auswärts, in der Tiefe ein einwärts gekehrter Strom stattfindet. Eine genaue Beobachtung der Erscheinung lehrt jedoch, daß diese Strömungen allein nicht imstande sind, dieselbe gänzlich zu erklären, sondern daß dabei osmotische Verhältnisse wirksam sind, welche den kleinen durch Diffusion bedingte Konzentrationsänderungen entsprechen. Daß dieses so sein muß, läßt sich schon aus der überraschenden Ausdehnung, welche die „Verdünnungsfelder“ erreichen, ableiten, und mehr noch aus ihrer Stabilität, welche noch lange fort-dauern kann, nachdem sie sich seitlich auszudehnen aufgehört haben und überzeugend beweist, daß ihre Fortexistenz bedingt wird durch das noch nicht eingetretene osmotische Gleichgewicht. Die Herstellung dieses Gleichgewichtes wird in solchen komplizierten Lösungen, wie verflüssigte Nährgelatine, wegen des colloidalen Zustandes eines Teiles der gelösten Substanzen selbst in den dünnen Schichten, welche hier in Betracht kommen, sehr lange auf sich warten lassen.

Schließlich verschwinden die Verdünnungsfelder, indem die aufgeschwemmten Bakterien sich wieder zu einer Emulsionsfigur anordnen. Da diese Anordnung jedoch nicht identisch ist mit der ur-

sprünglichen, bleibt eine sehr charakteristische, oft zierliche Spur des einstigen Daseins der Felder zurück.

### 5. Durch Chemotaxis bedingte Veränderungen.

Auch in diesem Falle ist das sichtbare Kriterium zunächst das Verschwinden der Emulsionsfigur ( $\alpha$  u.  $c$  in den Figuren). Dazu gesellt sich jedoch noch eine andere Wirkung, nämlich die lokale, zeitlich vorgreifende Erzeugung der Emulsionsfiguren durch chemotaktisch wirksame Körper in Flüssigkeitsplatten, wo ohne deren Gegenwart die Emulsionsfigur erst später entstehen sollte. Endlich ist in empfindlichen Kulturen eine centrale Anhäufung der Bakterien in der Mitte der Diffusionsfelder assimilierbarer Körper, offenbar, außer durch Strömung, auch durch positive Chemotaxis bedingt, bemerkbar.

Läßt man auf einer Schicht, wo die Figur noch nicht entstanden ist, eine Baumwollenzelle, ein Härchen etc., treiben, so bildet sich darum momentan eine mit unbewaffnetem Auge sichtbare Anhäufung, welche später zu einer Leiste oder einer Säulchenreihe in der ausgebildeten Figur wird. Wiederholt man den Versuch mit dem nämlichen Baumwollenfaden, so ergibt sich, daß derselbe bald unwirksam wird, indem daraus die chemotaktisch wirksamen Körper verschwinden. Durch vorhergehende Extraktion kann man die Fäden sofort inaktiv machen.

Unter den gewöhnlichen Versuchsbedingungen — und diese Sache muß ganz besonders betont werden — ist die charakteristische Reaktionsfähigkeit nur dann kräftig ausgebildet oder auch nur dann überhaupt gegenwärtig, wenn die Bakterien nicht Zeit gehabt haben, vorher einen Reservevorrat des in Untersuchung genommenen Körpers (vielleicht auch anderer chemisch verwandter Stoffe) anzuhäufen. Wenn man z. B. mit Glukose experimentiert, so bemerkt man gewöhnlich, daß nur das ganz frische Bakterienmaterial, welches von nicht allzu jungen<sup>1)</sup> Kulturen auf Fleischgelatine oder Fleischagar her stammt, genügend reaktionsfähig ist, und daß beim wiederholten Durchschütteln der Masse zur Erzeugung neuer Felder sehr bald Unempfindlichkeit für Glukose eintritt, obschon die Emulsionsfigur im ganzen sich doch mit besonderer Prägnanz ausbildet, da eben der sich in den Bakterienleibern anhäufende minimale Zuckervorrat ihre Beweglichkeit zu erhöhen scheint.

Auf die Wirkung von Glukose näher eingehend ( $\alpha$  im Holzschn.,  $c$  Taf. I. Fig. 1 u. 2), bemerke ich, daß dadurch gewöhnlich sehr große Störungen in den Emulsionsfiguren hervorgerufen werden, besonders wenn die Aktivität der Bakterien so groß ist, daß sie auch auf die osmotische Veränderung, welche die sich ausbreitende Glukose hervorruft, reagieren dürften. Ich war nicht immer imstande, die Differenz zwischen diesen beiden Agentien, d. h. zwischen osmotischer und chemotaktischer Wirkung zu unterscheiden, da bei beiden das Verschwinden der Emulsionsfigur der zunächst sichtbare Erfolg ist.

---

1) Fleischgelatine und besonders Fleischagar enthalten eine nicht unbedeutliche Zuckermenge, welche durch die Kulturen verbraucht sein muß, ehe die charakteristische Empfindlichkeit für Zucker erreicht wird (vergl. Note 4 p. 41).

Doch ist jedenfalls der tonotaktische Effekt sehr gering, verglichen mit dem chemotaktischen, vielleicht gar nicht realisiert.

Ferner ist die Gestalt der Emulsionsfigur, welche sich schließlich in dem Glukosefeld wieder ausbildet, charakteristisch und nicht nur sehr verschieden von der Umgebung, sondern auch in spezifischer Weise verschieden von einer reinen Strömungsfigur, wie sie Kochsalz z. B. erzeugen würde. In der letzteren sind die schön radial angeordneten Bakterienplatten viel länger wie die mehr punktförmigen Anordnungen in den Zuckerfeldern, welche den so zarten Diffusionsströmungen entsprechen, die bei der spezifisch leichten Glukose so gut wie allein eine Rolle spielen.

Daß die Glukose wirklich eine kräftige chemotaktische Wirkung ausübt, das ergibt sich auch noch sehr überzeugend aus dem Vergleiche mit Rohrzucker (*d* Taf. I. Fig. 1) und weniger gut aus dem Vergleiche mit Glycerin. Diese beiden Körper sind gänzlich unwirksam oder nur durch Konzentrationsänderung schwach wirksam und erzeugen deshalb, selbst in reinem Zustande hineingebracht, entweder kaum irgend eine Zerstörung der Emulsionsfigur oder nur einen Strömungseffekt (abhängig vom spezifischem Gewichte der verwendeten Kulturflüssigkeit), so daß deren große Verschiedenheit von Glukose weder von ihrer Diffusionsgeschwindigkeit noch von ihrem eigenen spezifischen Gewichte, welches von demjenigen der Glukose nur wenig verschieden ist, herrühren kann.

Besonders die Randerscheinung an den Glukosefeldern ist eine charakteristische, welche auf zunächst negative mit beinahe sofort darauf folgender positiver Chemotaxis hindeutet. Die Bakterien der Emulsionsplatten und Stäbe werden nämlich, sobald die verdünnte Glukoselösung sie durch Diffusion erreicht, etwas nach außen getrieben, um bald nachher in umgekehrte Bewegung zu geraten und sich in die Glukose hineinzustürzen, wodurch ein eigentümlicher Bakterienring entsteht (vergl. *a* im Holzschnitt), auf dessen Außenseite bisweilen (in der Figur nicht angegeben) ein bakterienarmer Raum sichtbar wird.

Die Erscheinung ist bei genügend aktiven Bakterien ungemein merkwürdig; und wenn bei erster Versuchsanstellung nicht sofort ein befriedigendes Resultat erhalten werden sollte, so muß man dabei eingedenk sein, daß vorher in den Bakterien angehäuften Reservematerial die Richtung ihrer Empfindlichkeit bedingt, und daß es unter solchen Umständen am besten ist, den Platten etwas neue Nahrung von bekannter chemischer Natur, wie Peptonlösung oder Fleischbouillon darzureichen, wodurch innerhalb weniger Stunden in den dünnen, stark aërierten Schichten neues Wachstum eingeleitet wird und eine Bereicherung an Bakterienindividuen entsteht, welche ihre früheren Reservestoffe verbraucht haben.

## 6. Einfluß eines Oeltropfens.

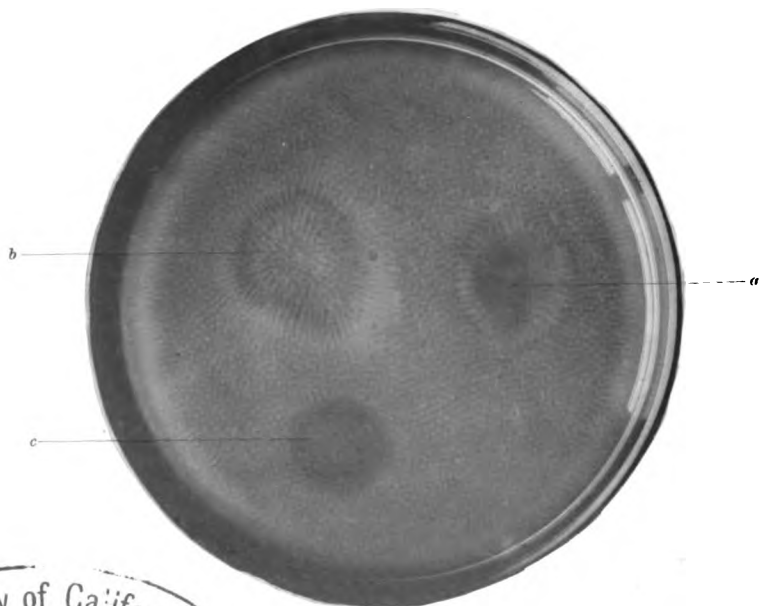
Bringt man mit der Spitze eines Platinfadens ein kaum sichtbares Oeltöpfchen auf die Oberfläche einer Emulsionsfigur, welche sich in fettfreier Flüssigkeit ausgebildet hat, so erblickt man eine plötzliche Veränderung über die ganze Strecke, worüber das Oel sich verbreitet



Fig. 1.



Fig. 2.



Emulsionsfiguren von *Bacterium termo*.

a Wasser, b Kochsalz-, c Glukose-, d Rohrzuckerfeld.

und welche zunächst darin besteht, daß die Emulsionsfigur erschüttert wird und für das Auge, jedoch nicht in Wirklichkeit, verschwindet. Kurz nachher kehrt sie wieder zurück, und zwar unter einer charakteristischen und sehr zierlichen Formveränderung. Diese erinnert an den Einfluß, welcher die Strömung in einem Felde höherer Konzentration hervorruft, und besteht hauptsächlich in einer vollkommen genau radialen Anordnung der Hauptlinien der Figur, mit dem Punkte, wo das Oeltröpfchen aufgelegt wurde, als Mittelpunkt; nur da und dort werden ziemlich genau tangential verlaufende Verbindungen zwischen den Hauptlinien sichtbar. War das Oeltröpfchen in eine runde Glasdose excentrisch auf die Flüssigkeit gelegt, so sieht man zwischen dem Oelcentrum und dem benachbarten Teile der Glaswand eine Krümmung in den Radien, die seitliche Ausbreitung des Oels andeutend, welche sozusagen durch die Glaswand reflektiert wurde. Kurz man erblickt, sozusagen in einem fixierten Bilde, alle diejenigen Strömungserscheinungen, welche nach unserer Vernunft bis auf eine gewisse Tiefe in einer Flüssigkeit stattfinden müssen, deren Oberflächenspannung plötzlich eine große Veränderung erfährt.

Wenn ich im Vorhergehenden hauptsächlich *Bacterium Termo* ins Auge gefaßt habe, so wünsche ich noch einmal ausdrücklich hervorzuheben, daß mir auch mit mehreren anderen Arten Erfahrungen vorliegen, welche ebenso prägnant sind und zu weiteren Versuchen auffordern. Die Subtilität der Erscheinung macht es erwünscht, daß auch andere Forscher sich darüber aussprechen.

13. Dezember 1896.

#### Bemerkung zu Tafel I.

Die Photographie konnte der Zartheit der Details durchaus nicht gerecht werden, so daß die Figuren nur annähernd der Natur entsprechen, doch geben sie, mit der Lupe betrachtet, eine ziemlich richtige Vorstellung wenigstens der Emulsionsfiguren im Allgemeinen. Weil der Boden der Glasschale nicht eben war, sind die Felder nicht rund.

Fig. 1. Emulsionsfigur von *Bacterium Termo*, mit Wasserfeld *a*, Kochsalzfeld *b*, Glukosefeld *c* (sehr verdünnt), Rohrzuckerfeld *d* (sehr konzentriert, eben entstehend).

Fig. 2. Emulsionsfigur von *Bacterium Termo*, mit Wasserfeld *a*, Kochsalzfeld *b*, Glukosefeld *c*.

*Nachdruck verboten.*

## Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir.

Von

**Dr. Ed. von Freudenreich,**

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der Molkereischule Rütli bei Bern.

Mit 2 Figuren.

Unter Kefir versteht man bekanntlich ein aus Milch hergestelltes Getränk, dessen Heimat der Kaukasus ist. Erreger dieser eigentümlichen Gärung sind die sog. Kefirkörner, gelbliche, harte,



ca. erbsengroße Klümpchen, welche Blumenkohlköpfchen nicht unähnlich sind, besonders wenn man sie in Wasser aufgeweicht hat. Es ist unmöglich zu sagen, woher dieselben stammen; schon seit undenklichen Zeiten sind sie unter den Völkerstämmen des Kaukasus in Gebrauch, welche ihnen den Namen „Hirse des Propheten“ beigelegt haben. Angeblich sollen sie vom Propheten Mohammed selber als göttliches Geschenk hinterlassen worden sein<sup>1)</sup>. In getrocknetem Zustande sehen die Kefirkörner in der That Hirsekörnern sehr ähnlich. Die Bereitung des Kefirs aus diesen Kefirkörnern ist im Kaukasus eine ziemlich primitive. Als Gefäße werden gewöhnlich Ziegenschläuche verwendet, in welchen man die Milch nach Zusatz dieses Fermentes der nun bald folgenden Gärung überläßt unter öfterem Durchschütteln der Schläuche. Nach ein paar Tagen kann der Kefir getrunken werden. Es wird nun die weggenommene Menge durch frische Milch ersetzt und die Gärung wird so beliebig lange fortgeführt. Die Kefirkörner selbst werden später herausgenommen, getrocknet und sorgfältig aufbewahrt, um bei anderer Gelegenheit die Gärung frisch einzuleiten.

In den civilisierten Teilen Europas, in welchen dieses Getränk eingeführt worden ist, hat man die Bereitungsweise etwas vervollkommenet. Gewöhnlich weicht man die Kefirkörner in Wasser unter häufigem Wechseln des Wassers auf, dann werden die aufgequollenen Körner (ca. 10 g trockener Körner) mit  $\frac{1}{2}$  Liter gekochter und abgekühlter Milch übergossen und 24 Stunden in einem Milchtopf stehen gelassen, wobei öfters umgerührt wird. Am zuträglichsten ist eine Temperatur von ca. 17° C. Hierauf trennt man die Körner von der Flüssigkeit mittels eines Siebes und letztere wird in Flaschen mit Bierverschluß gefüllt. Die Flaschen werden nun 2—3 Tage bei ca. 17° aufbewahrt unter öfterem Schütteln, und der Kefir ist nunmehr fertig. Einen stärkeren Kefir erhält man, wenn man noch 1 oder 2 Tage zuwartet.

Ist die Herstellung einer Flasche Kefir gelungen, so läßt er sich sehr leicht weiter vermehren. Man braucht bloß eine neue Flasche Milch (gekocht und abgekühlt) mit einigen Löffeln fertigem Kefir zu infizieren — man kann auch die nicht ganz ausgeleerte Flasche frisch füllen — um nach einigen Tagen wieder neuen Kefir zu haben.

Die Gärung, welche die Milch durchmacht, ist hauptsächlich eine Alkohol- und Milchsäuregärung, wobei beträchtliche Mengen Kohlensäure gebildet werden. Der Kefir ist daher ein erfrischendes, anregendes Getränk, welches wegen seiner Eigenschaften an dem Krankenbette vielfach Verwendung findet. Einzelne Forscher glaubten auch Peptonbildung nachweisen zu können, so Biel<sup>2)</sup>. Nach demselben soll auch die absolute Menge des Kaseins während der Gärung sich verkleinern, die Menge des Acidalbumins sich dagegen vermehren.

Nach O. Hammarsten<sup>3)</sup> dagegen wird das Kasein nicht verringert, der Albumingehalt nimmt ab, Pepton läßt sich aber nicht

1) Nach Jeffimoff soll die Benennung „Kefir“ von „Kefy“ herkommen, was in der Lokalsprache „beste Qualität“ bedeutet.

2) Pharm. Zeitung für Rußland. Bd. XXV. 1886. No. 11 u. 18.

3) Molkerei-Zeitung. Bd. II. p. 235 u. Agrikult. Centralblatt, Bd. XVII. p. 413.

nachweisen. Die als solches bezeichneten Körper seien Propepton (Hemialbumose) und eine größere Menge eines Eiweißkörpers, der wahrscheinlich durch Wärme verändertes Kasein oder Albumin ist. Man kann daher annehmen, daß das Kasein keine eigentliche Zersetzung erleidet und daß der Milchzucker hierbei die größere Rolle spielt, indem er in Alkohol, Milchsäure und Kohlensäure gespalten wird. Das Kasein dürfte höchstens eine physikalische Veränderung erleiden, indem es infolge der Säuregerinnung und des häufigen Durchschüttelns etwas feinflockiger wird, was zu der gepriesenen leichteren Verdaulichkeit des Kefirs beitragen mag. Auch Dr. Blank, der im Jahre 1885 einige Kefiranalysen ausführte, fand nur Bildung von Milchsäure, Kohlensäure und Alkohol.

Ein solcher Gärungsprozeß trägt alle Merkmale einer durch Mikroorganismen bedingten Gärung, und es hat daher schon vor Jahren der Kefir die Aufmerksamkeit der Bakteriologen auf sich gezogen.

Kern ist einer der ersten, die sich damit näher beschäftigten<sup>1)</sup>. Auf Grund seiner mikroskopischen Untersuchungen und Kulturversuche kommt er zu folgenden Schlüssen:

I. Die Klümpchen, das Ferment des Kefirs, geben ein interessantes Beispiel von geselligem Zusammenleben der Hefezellen und Bakterien.

II. Die Hefezellen sind als gewöhnliche Bierhefe zu betrachten.

III. Die Bakterien, im vegetativen Zustande von *Bac. subtilis* Cohn kaum zu unterscheiden, können auf Grund ihrer eigentümlichen Sporenbildung als eine neue Gattung, *Dispora caucasica* nov. gen. et nov. spec. neben der Gattung *Bacillus*, aufgestellt werden.

IV. An den vegetativen Zellen der *Dispora* ist eine deutliche Zellmembran zu ermitteln.

V. Die beweglichen Zellen der *Dispora caucasica* haben an dem einen Ende eine dünne, fadenartige, wellenförmige Geißel.

VI. Die Klümpchen überhaupt, besonders aber die vegetativen Zellen und Sporen der *Dispora caucasica*, sind gegen ungünstige Einflüsse äußerst widerstandsfähig.

Kern hat ganz richtig gesehen, daß wir im Kefir ein Beispiel ausgeprägter Symbiose haben, und die Bilder, die seine Arbeit begleiten, geben zum Teil eine ganz getreue Wiedergabe des makroskopischen und mikroskopischen Aussehens von aufgequollenen Kefirkörnern. Fig. 1 und 2, die seiner Arbeit entnommen sind, illustrieren dieses. In Fig. 1 sieht man in *a*, *b*, *c* trockene Körner in Naturgröße, während sie in *d*, *e* und *f* in aufgequollenem Zustande dargestellt sind. In Fig. 2 sieht man ein mikroskopisches Präparat eines in Nährflüssigkeit gelegenen Kefirkornes, welches Hefezellen und Bacillen zeigt. Infolge der zur Zeit seiner Untersuchungen noch mangelhaft entwickelten bakteriologischen Technik konnte jedoch Kern keine Reinkulturen erzielen; soviel sich aus seiner Arbeit er-

1) Bulletin de la Société impériale des naturalistes de Moscou, 1881. No. 8. Erwähnen kann man noch die Arbeiten von Dr. Sipowitz (1867) und Dr. Schabloffsky (1877).

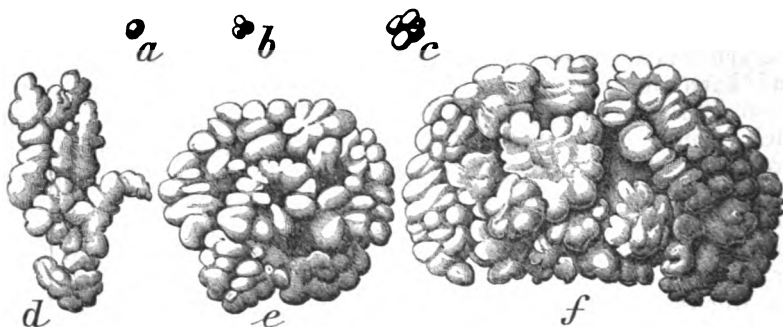


Fig. 1.

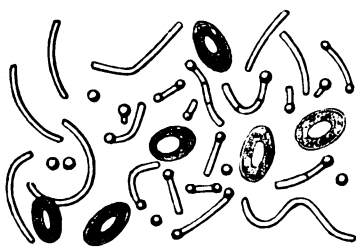


Fig. 2.

sehen läßt, sind einzelne seiner Schlußfolgerungen daher, wie wir sehen werden, nicht richtig.

Er brauchte nur flüssige Nährmedien (Cohn'sche Nährflüssigkeit) und mußte demgemäß in seinen direkt mit Kefirkörnern angelegten Kulturen allerlei finden, was lediglich als eine unvermeidliche Verunreinigung der Kefirkörner anzusehen ist. Wenn er auch einen

Hauptbestandteil der Kefirkörner, seine *Dispora caucasica*, richtig gesehen hat, so scheint mir unzweifelhaft, daß er infolge Verunreinigung seiner Kulturen Mikroorganismen in den Evolutionscyklus derselben hineingezogen hat, die nichts damit zu thun hatten. Einzelne seiner Abbildungen, z. B. 16, 17 und 20, welche Mikroorganismen darstellen, die der auf der Oberfläche seiner Kulturen sich bildenden Haut entstammten, sind wohl nichts anderes als Heubacillenarten, die zufällig den Körnern als Verunreinigung anhafteten. Ferner kann ich seine Identifizierung der Kefirhefe mit der gewöhnlichen Bierhefe nicht als richtig ansehen, und endlich sind ihm bei seinem Kulturverfahren Mikroorganismen entgangen, die bei der Kefirgärung eine Hauptrolle spielen, die Milchsäurebakterien nämlich, die er nicht isoliert hat. Dagegen hat er, wie bereits erwähnt, ganz richtig erkannt, daß dieser Gärungsprozeß auf einer Symbiose verschiedener Mikroorganismen beruht. Da Kern keine Reinkulturen hatte, konnte er auch nicht vermittels derselben Kefir darstellen. Ueber die Rolle seiner *Dispora caucasica* spricht er sich nicht näher aus und er scheint die Gärung auf die Thätigkeit der Hefe zurückzuführen.

Etwas später wiederholte H. Krannhals<sup>1)</sup> die Untersuchungen Kern's. Derselbe unterscheidet zehn verschiedene Formen der Kefirbakterien (drehrunde Stäbe u. s. w.). Es scheinen dieselben jedoch z. T. nur verschiedene Formen der gleichen Bakterie zu sein,

<sup>1)</sup> Ueber das kумыsähnliche Getränk „Kefir“ und über den Kefir-Pilz. (Deutsches Archiv für klinische Medizin. Bd. XXXV. 1884. p. 18.)

und auch Krannhals scheint, soviel ich aus seiner Arbeit ersehen kann, sie z. T. als solche anzusehen. Die Hefezellen sind nach seiner Beschreibung rundlich oder eiförmig. Spezifisch sind nach ihm die mit kugeligen Endanschwellungen versehenen Stäbchen.

Krannhals machte auch Kulturversuche mit Kern's Nährlösung und mit Nährgelatine. Letztere wurde jedoch nur zu Kulturen in der feuchten Kammer gebraucht. Wachstumsvorgänge beobachtete er in der feuchten Kammer nur an den drehrunden Stäbchen, welche nach meinen Erfahrungen und nach den Abbildungen zu urteilen wohl nur zufällige Verunreinigungen waren. Er beobachtete endständige Sporen und sieht sie als identisch mit Kern's *Dispora caucasica* an.

Mit Reinkulturen der von ihm beschriebenen Mikroorganismen stellte Krannhals keine Versuche behufs Darstellung des Kefirs an; auch fehlen bei ihm Angaben über andere Mikroorganismen, die, wie wir später sehen werden, stets im Kefir vorhanden sind. Es sind dieses Kokkenarten, die Krannhals vielleicht für Sporen seines *Bacillus* hielt, denn er giebt an, daß letztere sich auch als isolierte, kugelige, lichtbrechende Gebilde oder auch als ovoide Körperchen, oft kettenartig geordnet, präsentieren.

Weiter zu erwähnen ist noch die Arbeit Beijerinck's<sup>1)</sup>. Nach ihm soll die Hefe *Saccharomyces Kefir* den Milchzucker in Alkohol und Kohlensäure verwandeln. Diese leicht kultivierbare Hefe produziere ein Invertenzym des Milchzuckers, welches letzteren in Glukose und Galaktose spalte. Dieses Enzym nennt er Laktase.

Ich glaube kaum, daß Beijerinck die echte Kefirhefe in Händen hatte, denn alle übrigen Beobachter stimmen darin überein, daß die Kefirhefe allein nicht imstande ist, den Milchzucker zu vergären, was auch ich in meinen Untersuchungen stets bestätigt fand.

Ferner beschreibt Beijerinck einen *Bacillus*, der sich nur schwer kultivieren ließ. Er wächst nur nach 2—3 Wochen auf Milchserumgelatine; Laktase oder Invertferment produziert er nicht. Aus Milchzucker, Rohrzucker, Maltose und Glukose bildet er Milchsäure. Die zuträglichste Temperatur ist 40—45°. Er kann aerob oder anaerob leben. Die Zeichnungen Beyerinck's und die Mühe, die er hatte, diesen *Bacillus* zu isolieren, machen es mir wahrscheinlich, daß er den gleichen *Bacillus* vor Augen hatte, welchem ich bei meinen Untersuchungen auch begegnete und der wohl mit Kern's *Dispora caucasica* identisch ist, insofern letztere als Bestandteil der Kefirkörner erscheint, denn, wie bereits oben gesagt, sind die von Kern in Nährlösungen beobachteten beweglichen Bakterien höchstwahrscheinlich etwas ganz anders. Beijerinck konstatierte ein Zusammenkleben der Hefe- und Bacillenzellen, was möglicherweise mit dem Anfang der Bildung der Kefirkörner zusammenhänge. Dagegen sagt Beijerinck nicht, ob er durch Verimpfung dieser beiden Mikroorganismen echten Kefir erhalten habe. Ueber andere in demselben gegenwärtige Milchsäurefermente sagt er nur, daß sie in den

1) Beijerinck, Sur le Kéfir. (Archives néerlandaises des sciences exactes et naturelles. T. XXIII. 1889. p. 428.)

Kefirkörnern seien, läßt sie aber, soviel ich aus seiner Arbeit ersehen kann, keine wesentliche Rolle bei der Kefirgärung spielen.

Scholl dagegen sagt ganz richtig<sup>1)</sup>, daß die Kefirhefe nicht imstande sei, den Milchzucker zu zersetzen; nach ihm sollen in den Kefirkörnern dreierlei Pilze enthalten sein: die Hefe, ein Milchsäurebakterium, welches den Milchzucker spalte, wobei Milchsäure entstehe und wohl ein Teil des Milchzuckers hydratisiert werde, welchen Teil die Hefe zu Alkohol vergäre, und endlich die *Dispora caucasica*, von der Scholl annimmt, daß sie das Kasein teilweise peptonisiere.

Auch Adametz hat sich mit dem Kefir beschäftigt; seine Resultate sind mir jedoch bloß aus einem Vortrage bekannt, den er im April 1889 im Klub der Land- und Forstwirte zu Wien über die Bakterien normaler und abnormaler Milch hielt. Damals kam Adametz zu dem Schlusse, daß die von Kern kultivierten Bacillen mit der in den Kefirkörnern enthaltenen *Dispora caucasica* nichts gemein hatten; auch er konnte nur verschiedene, ganz gewöhnliche bewegliche Bacillen züchten; was die Hefe anlangt, so fand er drei verschiedene Arten, von denen jedoch keine Milchzucker zu vergären imstande war.

Schuppan<sup>2)</sup> giebt an, daß Kefiranalysen in bakteriologischer Hinsicht vorgenommen worden seien, welche die Möglichkeit der Darstellung desselben synthetisch, aus sterilisierter Milch und den aus asiatischen Kefirkörnern reingezüchteten Spalt- und Sproßpilzen ergeben hätten. Nähere Details fehlen indessen in seiner Mitteilung ganz.

Eine letzte Arbeit ist die von Nicolai Essaulof<sup>3)</sup>. Aus Kefirpilzen verschiedener Herkunft konnte derselbe stets *Saccharomyces*, *Bac. acidi lactici* und *Bac. subtilis* isolieren. Alle übrigen etwa vorhandenen Mikroorganismen sind als Verunreinigungen anzusehen, welche die häufigen Mißerfolge bei der Kefirbereitung bedingen können. Keine der drei Bakterien ist einzeln imstande, in Milch in Reinkultur gezüchtet, eine dem Kefir ähnliche Flüssigkeit zu geben, dagegen zeigte es sich, daß Mischkulturen derselben ein Gärungsprodukt der Milch liefern, welches dem Kefir gleich ist, d. h. in der Milch wurde Alkohol, Kohlensäure, Milchsäure und Pepton gebildet. Das Gärungsprodukt von *Saccharomyces* und *Bac. acidi lactici* war gleich einem Produkte aus allen drei Bakterien. Verf. ist daher der Meinung, daß der *Bac. subtilis* bei der Kefirbereitung absolut keine Rolle spielt, wohl aber kann er bei der Bildung des Kefirpilzes mitwirken, indem er bei der Vegetation ein Häutchen oder Gewirr von Fäden bildet, welches den *Bac. acidi lactici* und *Saccharomyces* aufnimmt.

Darin, daß *Bac. subtilis* mit der Kefirgärung nichts zu thun habe, können wir Herrn Essaulof beistimmen; dagegen glaube ich, daß er auch an der Bildung der Körner gar keinen Anteil nimmt; diese Rolle fällt wohl dem von Kern entdeckten *Bacillus* zu.

1) Scholl, Die Milch, p. 38.

2) Centralblatt für Bakteriologie. Bd. XIII. p. 557.

3) Ueber Kefir, eine bakt. u. chem. Untersuchung. [Inaug.-Dissertation.] Moskau 1895. (Referat in Molkereizeitung, 1895. p. 283.)

Darüber, ob die Kefirhefe im Verein mit *Bac. acidilactici* allein Kefir produzieren könne, habe ich keine Erfahrung; für meinen Teil habe ich andere Milchsäurebakterien gefunden als gerade *Bac. acidilactici*. Möglich ist es wohl und ich glaube auch, daß man im Kefir nicht überall die gleichen Mikroorganismen finden wird. Die Hefe und der Kern'sche *Bacillus* werden zwar stets vorhanden sein, aber die Milchsäurebakterien können möglicherweise verschieden sein, wenn sie nur die gleichen Spaltungen und Gärungen in der Milch auslösen.

Außer diesen Arbeiten wäre nicht viel Anderes zu erwähnen. Zwar ist die Litteratur über Kefir eine ziemlich umfangreiche, die meisten Arbeiten beschäftigen sich aber mehr mit der therapeutischen Frage und diejenigen, die auch das bakteriologische Gebiet berühren, bringen nichts Neues.

Faßt man die bisherigen Resultate zusammen, so hätten wir im Kefir ein Beispiel einer Symbiose mehrerer Mikroorganismen, worunter sich eine Hefe, die nach den meisten Autoren nicht imstande ist, allein den Milchzucker zu vergären, befände, sowie wahrscheinlich ein Milchsäureferment und ein bisher wohl bloß von Beyerinck kultivierter *Bacillus*, der mit der in den Kefirkörnern vorhandenen, von Kern beschriebenen, jedenfalls aber nicht kultivierten *Dispora caucasica* identisch zu sein scheint. Dagegen hat man bisher die Rolle dieser einzelnen Mikroorganismen bei der Kefirgärung noch nicht näher präcisiert.

Die nun zu beschreibenden Versuche habe ich bereits im Jahre 1892 begonnen, und mit Unterbrechungen bis Ende 1895, denn obwohl die Isolierung der einzelnen Mikroorganismen mir nicht allzuviel Schwierigkeiten bereitete, war die Synthese, d. h. die Herstellung von Kefir mit ihrer Hilfe, eine weniger leicht zu lösende Aufgabe.

Was zunächst die makroskopische Untersuchung der Kefirkörner anlangt, so kann ich Kern's Bemerkungen nur bestätigen und verweise diesbezüglich auf Fig. 1 und 2. Im trockenen Zustande sind dieselben sphärisch oder elliptisch, gelblich, von 2 bis 3 mm, bis zu 3, 4 und 5 cm Dicke. In Wasser quellen die Körner leicht auf und sind dann weißlich. Besonders in letzterem Zustande besitzen sie das Aussehen des Blumenkohls. Mikroskopische Präparate macht man am besten, indem man mit der Pincette ein Stückchen des aufgequollenen Kefirkornes auf einem Deckgläschen verreibt und mit Fuchsin, Methylenblau oder mit Methylviolett färbt. In den Präparaten sieht man dann besonders Hefezellen und lange, meist gekrümmte Bacillen, die den Abbildungen Kern's sehr ähnlich sind; daneben auch kürzere Stäbchen, wohl nur ein jüngeres Entwicklungsstadium des *Bacillus* und auch Kokkenformen, letztere aber viel seltener.

In älteren Kefirkörnern, die lange trocken aufbewahrt worden sind, bleiben die Bacillen meist farblos und enthalten nur einzelne gefärbte Körner. Oft sind letztere nur an beiden Polen gefärbt, eine Erscheinung, welche von Kern nur irrtümlich als Sporen gedeutet worden ist, weshalb er ihnen den Namen *Dispora caucasica* beilegte. Wahrscheinlich aber waren, wie bereits erwähnt, die meisten

Exemplare, die er in seinen Kulturen sah, nichts anderes als Kartoffel- und ähnliche Bacillen. Sporen habe ich in den Reinkulturen des *Bacillus* der Kefirkörner nie beobachtet. Statt *Dispora caucasica* möchte ich ihn daher *Bacillus caucasicus* nennen.

Bei meinen ersten Kulturversuchen ging ich von Kefirkörnern aus, die ich von verschiedenen Quellen bezog. Die in Wasser aufgeweichten Körner wurden mehrmals mit sterilem Wasser abgewaschen, ein Stückchen davon mit einem sterilen Glasstabe in sterilem Wasser verrieben und damit Gelatineplatten gegossen. Ich sah jedoch bald ein, daß ich damit nicht zum Ziele gelangen würde. Mehrmals blieben die Platten total steril, wohl weil die Gelatine als Nährboden nicht günstig genug war, um die vertrockneten Organismen zum Keimen zu bringen. Andere Male waren die Körner trotz des mehrmaligen Auswaschens mit fremden Keimen (verflüssigenden Bacillen u. s. w.) verunreinigt, die auf den Platten die Oberhand gewannen, ohne jedoch, wie sich später herausstellte, mit dem Kefir irgend etwas gemein zu haben. Andere Male endlich, konnte ich die Kefirhefe und ovale Kokken züchten, aber nie den in den Körnern so zahlreich vorhandenen *Bacillus*.

Als Ausgangspunkt der Kulturversuche nahm ich nun fertigen Kefir, den ich vorher dadurch möglichst reinigte, daß ich ihn durch mehrere Generationen hindurch in sterilisierter Milch fortzüchtete. Zur Isolierung der Mikroorganismen bediente ich mich zunächst des bekannten Gelatineplattenverfahrens und später, als ich sah, daß erstere nicht zum Ziele führten, der Milchserumagar-Oberflächeplatten (vergl. Centralblatt für Bakteriologie. Bd. XV. p. 643); auch wurden anaërobe Kulturen angelegt, teils in Wasserstoffatmosphäre, teils in Gelatineröhren mit Paraffin-Vaselinverschluß (vergl. Landwirtschaft. Jahrbuch der Schweiz. Bd. VIII. 1894. p. 208).

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Der Salpeterpilz.

Von

A. Stutzer und R. Hartleb.

(Schluß.)

Zweitens hebt Winogradsky hervor, daß der von uns gezüchtete Nitratbildner auf organischen Nährböden im Gegensatz zu den Befunden des erstgenannten Autors, relativ üppig gedeihe, so daß man annehmen müsse, die Oxydation von Nitriten sei eine labile Funktion. „Tritt etwa“, schreibt W., „so rasch Umzüchtung, Rassenbildung ein? Oder wird die Oxydationsarbeit vom Organismus nur in einem ganz besonderen, vielleicht pathologischen Zustande vollbracht? Sollten die Angaben der Autoren sich bestätigen, so hätten wir erstens den Beweis, daß das Nitrifikationsvermögen kein streng spezifisches ist, und zweitens ein höchst interessantes Beispiel von der Wandelbarkeit der Funktionen bei den Bakterien. Leider aber

weist die Geschichte der Nitrifikation schon einige Entdeckungen ganz derselben Art, die sich nicht bestätigt haben, auf. Es war mir auch die Deutung der oben erwähnten Angaben, welche durch ihre Gründlichkeit und Ausführlichkeit den mit der Sache nicht näher Vertrauten wohl imponieren konnten, keinen Augenblick zweifelhaft.

Es war mir aber die Hartnäckigkeit, mit welcher sich gewisse alte Fehler wiederholen, auch jetzt, wo die neueren Untersuchungen doch etwas Licht über dieses Gebiet verbreitet haben, etwas unerwartet.“ — Gegenüber dieser deutlichen Sprache wollen wir nur erwidern, daß wir die Thatsache in vollem Umfange aufrecht erhalten, daß die Nitrifikation eine labile Funktion eines bestimmten Organismus ist, welcher unter gewissen Verhältnissen auch auf organischen Nährböden üppig gedeiht. Die Beweise hierfür werden wir in einem späteren Abschnitte liefern.

Der dritte Punkt, den wir aus den Mitteilungen Winogradsky's hervorheben, betrifft die Untersuchung einer von hier an den genannten Autor gesandten flüssigen Kultur. W. bat uns, ihm etwas von dem reinen Material zu schicken. Unsere Gelatinekulturen waren zur Zeit der Anfrage bereits einige Monate alt und hatten das Nitrifikationsvermögen verloren (siehe Bd. I. 1895. p. 739).

Auch waren die Kieselsäureplatten schon stark eingetrocknet und sandten wir daher flüssige Kulturen, aus welchen durch vorherige Behandlung mit Soda der größte Teil der nicht nitrifizierenden Arten von Mikroorganismen vernichtet war. Diese flüssigen Kulturen sind demnach keine Reinkulturen gewesen, wir haben sie nie für solche angesehen, sie enthielten indes nur wenige Arten verschieden geformter Bakterien und nitrifizierten stark.

Die sehr langen Auseinandersetzungen Winogradsky's über die Eigenschaften der in dieser flüssigen Kultur gefundenen Mikroorganismen würden größtenteils gegenstandslos gewesen sein, wenn W. nicht irrtümlich annahm, wir hätten diese Kulturen für völlig rein gehalten.

Die genaue Beschreibung der neben dem eigentlichen Nitratbildner von ihm gefundenen 3 Organismen ist insofern für uns von Interesse, als solche ziemlich genau mit den von uns beobachteten Vorstufen zum Nitratbildner übereinstimmen, welche sämtlich aus einem gewissen Organismus ursprünglich entstanden sind.

In welcher Weise diese Umwandlungen vor sich gehen, werden wir in einem der folgenden Abschnitte zu begründen haben.

Bei unseren Versuchen über die Auffindung der nitrifizierenden Organismen haben wir stets die Beobachtung gemacht, daß in flüssigen Kulturen, bei zunehmendem Alter, nachdem reichlichere Mengen von Nitrit in Nitrat verwandelt waren, auf der Oberfläche sich stets ein Schimmelpilz entwickelte, den wir für eine Verunreinigung und für einen sehr lästigen Begleiter der gesuchten und gezüchteten Mikroorganismen ansahen. Es war gleichgiltig, ob wir Erden aus Ost- oder Westdeutschland, ob aus Kamerun oder aus Ostafrika verwendeten, stets kam nach gewisser Zeit der Schimmelpilz zum Vorschein, ja sogar auf der Kieselgallerte, bei unseren ersten Unter-



suchungen über den Nitratbildner, war der Pilz bisweilen anzutreffen, und nun gar erst bei den Kulturen mit Nährgelatine. Trotz sorgfältigsten Sterilisierens konnte man es häufig nicht hindern, daß die älteren Kulturen durch plötzliches Erscheinen eines Schimmelpilzes als unbrauchbar gelten mußten. Schon früh kamen wir auf den Gedanken, ob dieses unverwüsthche Unkraut in irgend welchen Beziehungen zur Nitrifikation stehen könnte, indes blieben die (vielleicht unter unrichtigen Verhältnissen und nur kürzere Zeit fortgesetzten Versuche) resultatlos.

Durchblättert man die Arbeiten von Winogradsky, so findet man, daß dieser Forscher mit ähnlichen Schwierigkeiten zu kämpfen hatte. Schon in der ersten Mitteilung wird erwähnt<sup>1)</sup>, daß ein Sproßpilz die Kulturen verunreinigt habe, welcher nicht die Fähigkeit besaß, eine Nitrifikation zu bewirken.

In der 5. Mitteilung finden wir die Notiz<sup>2)</sup>: „Sauf des bouts de mycélium, provenant des petits Oidium du sol, on n'y découvrait rien de plus un microscope.“ Und an einer anderen Stelle: „Le 5 mai je vis apparaître, rien que sur le surface, de toutes petites colonies, qui me parurent appartenir à un petit oidium du genre de ceux qu'on trouve très souvent dans la sol.“

In der letzten Abhandlung von Winogradsky<sup>3)</sup> wird hervorgehoben, daß die Gelatine- und Agarplatten schließlich durch Rasen von *Penicillium* unbrauchbar wurden. Wir vermuten, daß sowohl bei unseren wie auch bei den Untersuchungen Winogradsky's stets dieselbe Pilzart vorhanden war.

Bei Versuchen, die wir in neuerer Zeit ausführten, um über die Aufnahme von Kohlenstoff seitens des Nitratbildners Aufklärung zu erhalten, machten wir eine merkwürdige Beobachtung. Reinkulturen des Nitratbildners, welche nach den Angaben Winogradsky's auf Nitritagar gezüchtet und als „bouillonsteril“ befunden waren, also allen Ansprüchen Winogradsky's an eine wirkliche Reinkultur genügten, wurden in Nährflüssigkeiten übertragen. Die letzteren enthielten als Stickstoffquelle Natriumnitrit. Durch zwei Gefäße wurde fortwährend ein starker Luftstrom hindurchgeleitet. Während der Inhalt der ersten Flasche durch Watte filtrierte Luft empfing, wurde die für den zweiten Apparat bestimmte Luft durch eine hohe Schicht konzentrierter Natronlauge geführt. Mit anderen Worten ist den Nitratbildnern in einem Falle atmosphärische Kohlensäure, im anderen eine von Kohlensäure befreite Luft dargereicht. Das letztere Gefäß erhielt an Stelle von  $\text{CO}_2$  einen sehr geringen Zusatz von Glycerin als kohlenstoffhaltiges Material. Nach Verlauf von ungefähr 12 Tagen, während welcher Zeit die Gefäße in einem dunkeln Schranke standen, dessen innere Temperatur 25–30° C betrug, hatten die Mikroorganismen in der ersteren Flasche Nitrat erzeugt und waren die morphologischen Eigenschaften des Nitratbildners in diesem Gefäße nicht verändert. In der Glycérinkultur konnte nach dieser Zeit kein

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1890. No. 4. p. 213; dieses Centralbl. Abt. II. Bd. I. p. 23.

2) Annales de l'Institut Pasteur. 1891. No. 2. p. 18 u. 24 des Sonderabdruckes.

3) Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. II. p. 454.

Nitrit, jedoch noch Spuren von Nitrat nachgewiesen werden. Die Kultur war sehr stark getrübt und fanden wir neben äußerst zahlreichen Stäbchen und Kokken Mycelfäden eines Schimmelpilzes, die denjenigen Mycelfäden ähnlich waren, welche der lästige begleitende Schimmelpilz unserer Kulturen in wässerigen Nährlösungen so oft erzeugt hatte. Unerklärlich war es uns, in welcher Weise die Bakterien in einen Schimmelpilz sich verwandeln konnten. Wir mußten systematisch, Schritt für Schritt, die etwaige Umwandlung verfolgen und fingen zunächst an, die Eigenschaften des Schimmelpilzes näher zu erforschen.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Ursachen der Kartoffelfäule.

Von

Prof. Dr. Frank

in

Berlin.

(Schluß.)

Unter den gleichen Krankheitssymptomen habe ich manchmal an Stelle des dickfädigen Pilzes ein drei- bis viermal dünneres Mycelium immer quer durch die Zellen hindurchwachsend gefunden. Es gehört offenbar wieder einem anderen Pilze an, den ich aber bis jetzt noch nicht bestimmen konnte. Es giebt also außer *Phytophthora* und *Rhizoctonia* noch andere Fadenpilze, welche Kartoffelfäule veranlassen können.

Hier ist auch hinzuzufügen, daß es Wehmer kürzlich gelungen ist, durch Impfung mit dem meist auf schon ganz faulen Kartoffeln erst während der Aufbewahrung sekundär erscheinenden Schimmelpilz *Fusarium Solani* an Kartoffeln Fäulnis zu erzeugen, wobei jedoch keine Lösung der Stärkekörner stattfand, nur die Zellhäute sich lösten und also eine Art Trockenfäule entstand. Es wäre nicht undenkbar, daß auch dieser Pilz wirklich schon auf dem Felde als primärer Erreger einer Kartoffelfäule auftreten kann; doch müßte dies erst noch bewiesen werden.

3) Die Bakterien-Fäule. Es kann in der That auch durch Bakterien allein, ohne Beteiligung echter fadenbildender Pilze, auf dem Felde vielfach eine Kartoffelfäule hervorgerufen werden. Hier bleibt das Stärkemehl unverändert in den Zellen erhalten, die letzteren verlieren aber, weil die Zellhäute mehr oder weniger gelöst werden, ihren festen Zusammenhang, und daher nimmt das Kartoffelfleisch die Beschaffenheit eines weißen Mehلبreies oder, wenn der Saft des Gewebes sich mehr und mehr verliert, diejenige einer weißen, trockenen, mürben oder pulverförmigen Masse an, also den Zustand, den man gewöhnlich als Trockenfäule bezeichnet. Die Bakterien scheinen durch irgend eine zufällige Wundstelle, vielleicht auch durch

Lenticellen einzuwandern und zeigen sich zunächst nur zwischen den Zellen, dieselben in reichlichen Massen ringsum einhüllend und dadurch den Zusammenhang der Zellhäute lockernd. Später können sie, wenn inzwischen nicht schon völliges Vertrocknen eingetreten ist, auch ins Innere der Zellen eindringen. Nach eigenen von mir kürzlich angestellten Versuchen muß ich die Ansicht Reinke's und Anderer bestätigen, wonach Bakterien als selbständige Erreger der Kartoffelfäule zu gelten haben; man kann durch Uebertragung einer kleinen Menge bakterienhaltigen faulen Kartoffelgewebes in eine Impfstelle gesunder Kartoffeln hier in kurzer Zeit dieselbe Fäule mit allen ihren charakteristischen Symptomen sich übertragen und weit über die Kartoffel sich ausbreiten sehen.

4) Die Nematoden-Fäule oder Wurm-Fäule. Im Jahre 1888 entdeckte Kühn eine Wurmfäule der Kartoffeln, wobei Nematoden unter die Schale der Kartoffel eindringen und eine Erkrankung des Zellgewebes bedingen. Diese Entdeckung ist seither nicht gebührend verfolgt und fast vergessen worden, bis ich im vorigen Jahre wieder auf sie aufmerksam machte (Zeitschrift für Spiritusindustrie. 1896. No. 17), weil die Erscheinung gegenwärtig in der That als eine die Haltbarkeit der Kartoffeln sehr gefährdende sich bemerkbar macht. Zum Unterschiede von den anderen Arten der Kartoffelfäule gebe ich auch hier die charakteristischen Merkmale an. Aeußerlich erkennbare, eingesunkene, mißfarbige Stellen der Schale zeigen beim Durchschneiden der Kartoffel das Fleisch dicht darunter gebräunt und erschlafft, also makroskopisch ganz wie bei der *Phytophthora*-Fäule. Aber man findet nichts von Pilzschläuchen, wohl aber Nematoden in verschiedenen Alterszuständen, zum Teil auch in Form von Eiern. In dem erkrankten Gewebe bleibt das Stärkemehl ziemlich unverändert erhalten; aber in dem nicht gebräunten Umkreise um die Nematoden-Nester tritt häufig Verschwinden des Stärkemehls unter Vermehrung des Protoplasmas der Kartoffelzellen ein. Kühn hält das Kartoffelälchen mit dem auf verschiedenen Nährpflanzen verbreiteten *Tylenchus devastatrix* für identisch. Es wäre jedoch wünschenswert, daß darüber erst eine sichere Entscheidung getroffen würde. Ich habe allerdings solche mit Mundstachel versehene Aelchen darin gefunden; aber zugleich noch andere Formen, von denen ich im Augenblicke nicht entscheiden kann, ob es verschiedene Entwicklungsstadien desselben Aelchens oder vielmehr andere, vielleicht sekundär eingewanderte Nematodenformen sind.

5) Das Buntwerden oder die Eisenfleckigkeit der Kartoffeln. Diese Erscheinung darf, streng genommen, gar nicht zur Kartoffelfäule gerechnet werden, obgleich sie auf den ersten Blick für eine solche oder wenigstens für den Anfang derselben gehalten werden könnte; aber sie scheint etwas ganz anderes und überhaupt nichts Parasitäres zu sein. Kartoffeln, die äußerlich ganz gesund aussehen, lassen auf dem Durchschnitte in ihrem Fleische verstreute braune Flecke oder Linien erkennen. Solche Kartoffeln bleiben aber über Winter vollkommen haltbar, sie zeigen noch im Frühlinge dieselbe unveränderte Marmorierung in dem gesund gebliebenen Fleische.

Von irgendwelchen Parasiten ist mikroskopisch nichts zu entdecken; man sieht nichts weiter, als daß einzelne Zellen oder Gruppen von Zellen, rings von lauter gesunden Zellen umgeben, in ihrem Protoplasma eine braune Farbe angenommen haben, wobei die Stärkekörner in der Zelle und die Zellhaut ganz unverändert bleiben. Diese Bräunung ist so lokalisiert, daß sie manchmal gar nicht die ganze Zelle umfaßt, sondern daß nur an dem einen Rande oder in einer Ecke der Zelle das Protoplasma diese Farbe angenommen hat. Ich habe solche Kartoffeln im Frühlinge ausgesät und daraus ganz gesunde Stauden mit gesunden, nicht wieder eisenfleckigen Knollen hervorgehen sehen. Die Krankheit wird also auch nicht übertragen und scheint wohl durch einen Einfluß des Bodens oder des Wetters hervorgerufen zu sein, den man aber eben noch nicht aufgeklärt hat.

Es ist klar, daß, nachdem wir verschiedene Arten von Kartoffelfäule mit jeweils sehr verschiedenen Erregern kennen gelernt haben, auch die Bekämpfungsmaßregeln danach sich richten müssen. Nach der bisherigen Annahme, wonach *Phytophthora infestans* der regelmäßige Erzeuger der Kartoffelkrankheit ist, mußte von einem völlig gesunden Saatgute das Befreitbleiben von der Krankheit erwartet werden, weil wir keine andere Möglichkeit des Ueberganges von *Phytophthora infestans* von einem Jahre ins andere kennen als die in Form des Myceliums in den Saatkartoffeln. Wir sehen jetzt, daß selbst die sorgfältigste Auswahl gesunder Saatkartoffeln kein Mittel gegen die anderen Erreger der Kartoffelkrankheit sein könnte, weil die Keime aller dieser im Ackerboden sich befinden und sich erhalten. Um diese möglichst niederzuhalten, wäre nach Möglichkeit dafür zu sorgen, daß bei der Kartoffelernte die kranken Kartoffeln nicht auf dem Felde liegen gelassen, sondern ebenfalls für sich mit abgesammelt werden. Denn all dieses kranke Material ist besonders reichlich mit den hier zur Entwicklung gelangten Kartoffelpilzen, -bakterien und -nematoden behaftet und stellt ein wirksames Infektionsmaterial für spätere Zeiten dar. Ebenso wird ein richtiger Fruchtwechsel auch für den Kartoffelbau von sanitärer Bedeutung sein. Es ist begreiflich, warum ein zu häufiger Kartoffelbau auch die Krankheiten der Kartoffel vermehrt, denn es ist ein allgemeines Gesetz, daß mit dem Anbau und besonders mit dem vermehrten Anbau unserer Kulturpflanzen auch deren Feinde mit gezüchtet und deren Keime im Erdboden bedeutend vermehrt und lebendig erhalten werden.

Institut für Pflanzenphysiologie und Pflanzenschutz an der  
Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin, 6. Jan. 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Bacteriosi del gelso.

[Lavori e Relazioni della R. Stazione di Patologia Vegetale presso  
il Museo Agrario di Roma.]

Ricerche

del

**Dott. Vittorio Peglion,**

Assistente nella R. Stazione di Patologia vegetale di Roma.

(Fine.)

Restava da stabilire quale azione il bacillo isolato eserciti sui bachi da seta. Tutti gli Autori che si occuparono in precedenza della quistione, convennero nell'attribuire una marcata azione patogenica del bacillo stesso in riguardo ai bachi. Alcuni (Cuboni-Garbin) hanno identificato il male cui questi hanno soccombuto colla flaccidezza; altri pur ammettendo che i bachi nutriti di foglia inquinata soccombano, o hanno trovato differenze notevoli fra la malattia prodotta da questa e la flaccidezza (Macchiati) oppure vi hanno riscontrato una certa affinità (Vogliano). Benchè la stagione fosse alquanto inoltrata ho potuto eseguire alcune prove a tale riguardo, giovandomi di bachi prelevati dagli allevamenti sperimentali del R. Istituto Fisiologico dell'Università, diretto dal Prof. Luciani. Ho sperimentato prima le iniezioni per via anale di acqua contenente in sospensione il bacillo e poscia la nutrizione di una partita di bachi con foglia sanissima inquinata con acqua in cui erano state diluite delle colture pure. I bachi cui si fecero iniezioni anali a mezzo di siringa Pravaz, morirono rapidamente, presentando caratteri affatto diversi da quelli che hanno i bachi flaccidi. Di 50 bachi nutriti con foglia spruzzata con acqua contenente in sospensione i bacilli soltanto 4 morirono presentando caratteri analoghi a quelli della flaccidezza e nei liquidi intestinali di due fra gli stessi prevaleva la forma bacillare del gelso, come ho potuto constatare per mezzo delle colture in scatole di Petri.

Noto a questo punto che queste esperienze vennero eseguite con bachi prossimi ad andare al bosco, diguisachè fu breve il tempo, durante il quale si è potuto sperimentare l'azione patogenica del bacillo. Ed inoltre in tal periodo il baco trovasi nel massimo di attività vitale ed è probabile che la resistenza che esso può esplicare contro le malattie parassitarie sia in relazione di quella. Ciò potrebbe servire a spiegare la discordanza fra questi risultati e quelli che ha ottenuto Macchiati (5) a cui si devono accurati studi in proposito. Le esperienze suesposte non negano che il bacillo parassita del gelso sia dotato di una certa azione patogena verso il baco; ma allontanano sicuramente l'ipotesi che la malattia che esso può causare possa essere così virulenta com'è la flaccidezza. Il Macchiati ha invero eseguito tutte le sue esperienze sopra bachi di seconda età, ed in taluni casi ha osservato una mortalità molto elevata nei bachi nutriti colla foglia inquinata col bacillo del gelso.

\* \* \*

Le recentissime ricerche di Krassil'schtschik circa la flaccidezza ed il giallume de' bachi tendono a dimostrare l'esistenza di uno speciale microorganismo (*Streptococcus Pasteurianus*) che mai si trova nel tubo digerente del baco sano, mentre è costantemente presente nei bachi flaccidi. Colle colture pure dei diversi microbi che si trovano nell'intestino de' bachi da seta, quest'autore non è riuscito a riprodurre la flaccidezza se non in quelle prove fatte collo *Streptococcus Pasteurianus*, col quale è riuscito a provocare una mortalità del 30—70 % nei bachi e con i caratteri classici della flaccidezza.

Tali ricerche confermando le altre suesposte, tendono a negare un nesso qualsiasi tra la flaccidezza ed il bacillo parassita del gelso. Ma non si può misconoscere d'altra parte il fatto che ben di sovente si abbia da lamentare una moria limitata negli allevamenti, ed i bachi morti vengano considerati come flaccidi. Ciò ho potuto constatare in allevamenti in cui erano scrupolosamente osservate tutte le pratiche consigliate dalla bachicoltura razionale. Non sarei affatto alieno dal ritenere che questa parziale moria di bachi dipenda dall'essere stati i medesimi nutriti con foglia ammalata di batteriosi; che poi i bachi morti per questa ragione vengano ritenuti colpiti da flaccidezza, non v'ha da meravigliarsi poichè i caratteri esterni attribuiti dai pratici a questo male sono in realtà tutt'altro che specifici di quella malattia.

\* \* \*

Nella memoria dei Prof. Cuboni e Garbini, il microorganismo parassita del gelso è stato considerato appartenere al genere *Diplococcus*. Il Macchiati che ha accuratamente studiato lo stesso microbio dal lato biologico lo ha riferito al genere *Bacillus*, istituendo la specie *B. Cubonianus*; le mie osservazioni collimano con quelle del Macchiati per cui il bacillo isolato dalle foglie e dai rami di gelso va riferito al genere *Bacillus*. Nelle zooglie che si formano sulle foglie del gelso il bacillo non oltrepassa mai  $2\ \mu$  di lunghezza e la dimensione media è di  $1\ \mu\ \frac{1}{3}$ . Nelle colture su gelatina si osservano filamenti più lunghi ma evidentemente costituiti da più individui. Data la spiccata analogia che passa fra i caratteri offerti dalla malattia del gelso studiata in Francia da Boyer e Lambert e quelli che si osservano nei gelsi colpiti da *B. Cubonianus*, nonchè tra i caratteri attribuiti nell'un caso e nell'altro ai microorganismi patogeni, non si può non ammettere che le due malattie siano identiche e quindi che il microorganismo descritto sotto il nome di *Bacterium Mori* sia invece il *Bacillus Cubonianus*.

\* \* \*

Lo studio anatomico delle lesioni che si osservano sulle foglie e sui getti malati offre poco di notevole da osservare. Nelle foglie v'è corrosione dei tessuti del mesofillo nei punti infetti ed in seguito alla tensione dei circostanti tessuti le zone morte si lacerano e si distaccano. Quando l'infezione colpisce le nervature principali vi si osservano lesioni analoghe a quelle che si riscontrano sui teneri germogli e che sono esposte più innanzi; l'arresto nello sviluppo che si verifica nelle zone colpite dal parassita induce l'aggrinzamento e l'accartocciamento

del parenchima, alterazione che rassomiglia assai a quelle causate dagli afidi.

Passo ora a descrivere le alterazioni che si possono osservare nei germogli e nei rami in seguito alla penetrazione del parassita.

Nei primi momenti di sviluppo dell'ulcerazione, l'alterazione interessa l'epidermide, il tessuto parenchimatico erbaceo ed il collenchima sottostante; le cellule mostrano il protoplasma contratto di colore gialliccio e la parete raggrinzata. L'alterazione si propaga indi radialmente agli strati corticali interni e giunge fino alla regione endodermica; dopodichè invade la regione floematica e cambiale. In molti casi l'alterazione non interessa il corpo legnoso, ciò pare che accada quando la differenziazione dei tessuti del pleroma è già nettamente avvenuta al momento dell'infezione. Invece in quelle ulcere che si formano nelle zone apicali dove il differenziamento dei tessuti è in corso, l'alterazione che invade rapidamente i tessuti corticali, giunge a contatto della regione xilematica quando a mala pena sono distinti i vasi primari e in seguito alla disorganizzazione del parenchima annesso ai fasci, i vasi primari restano isolati e seguono la sorte del parenchima stesso. In tal caso l'ulcera si estende per tutto lo spessore del ramo e giunge al midollo.

Nei tessuti alterati, i contenuti cellulari lentamente scompaiono e vengono sostituiti da composti bruni che non assorbono le ordinarie sostanze coloranti derivate dall'anilina. Le membrane cellulari stesse retratte, in molti punti scompaiono e si generano in tal modo delle piccole cavità che diventano molto ampie in seguito allo stiramento causato dallo accrescimento radiale della parte sana del getto. Colorando le sezioni con soluzione di rosso congo si riesce con un accurato esame a discernere le zooglie irregolarmente sferoidali del bacillo che è causa della malattia.

In seguito all'azione del parassita avvengono notevoli cambiamenti nei tessuti sani circostanti. Nella regione cambiale v'è attiva proliferazione: si formano degli ammassi di tessuto parenchimatico che tendono a limitare perifericamente la massa dei tessuti alterati e ad arrestare il progredire della infezione. A tale scopo gli strati periferici del tessuto parenchimatico suberizzano le membrane cellulari.

Nei rami di due anni, come si è detto, è cosa agevole distinguere le tracce delle alterazioni avvenute nell'anno precedente. Intanto ad occhio nudo risaltano delle sottili fenditure nel corpo legnoso che stanno ad indicare le zone di xilema distrutto dai bacilli. Tali fenditure brune si estendono dal midollo fino al legno di formazione annuale. All'esame microscopico tali fenditure riescono meglio definite: esso sono limitate sui lati da elementi di parenchima legnoso ed abitualmente comprese fra due raggi midollari. In seguito ad intensa proliferazione della regione cambiale e del libro molle si è formato un ammasso di tessuto di cicatrizzazione che spinge lungo le pareti delle fenditure parte dei tessuti morti della regione liberiana e corticale dell'anno precedente. Questo tessuto di cicatrizzazione che si forma lungo tutta la periferia della zona offesa congiungendosi in corrispondenza della regione corticale, racchiude in sè la parte del corpo legnoso, distrutta per opera del bacillo, ed in seguito alla

pressione derivante dallo incremento e dal turgore dei tessuti la fenditura va sempre più riducendosi fino a ridursi del tutto lineare e riconoscibile al solo colore bruno.

Nella parte esterna della regione corticale di questo tessuto cicatriziale si differenzia uno strato di fellogene che va a raccordarsi collo strato di fellogene normale. Il sovero così prodotto separa del tutto dalla parte sana i tessuti morti e disorganizzati che vengono sospinti all' esterno sotto forma di squamette nere.

Le ulcerazioni causate dalla bacteriosi si richiudono quindi col medesimo processo che è comune alle ferite in genere. È superfluo notare che soltanto quando le alterazioni sono poco estese è possibile una sollecita cicatrizzazione. Quando come si è detto dappprincipio venga offesa dal parassita l'intera periferia del getto dell' anno, allora il getto stesso dissecca e muore, e restano delle deformazioni più o meno marcate anche in quei getti che vengono gravemente offesi sopra una parte estesa della loro periferia.

È però degno di nota il fatto che negli anni successivi all' infezione le zone ulcerate non diventano sede d' infezione, che in altri termini, il male non continui a svilupparsi sopra i rami vecchi che furono colpiti nei loro primi anni di esistenza. Per quante prove io abbia fatto non mi è mai riuscito nei numerosi rami esaminati, di osservare tracce di alterazioni nei tessuti di neoformazione che limitano le ulcere primitive.

Questa malattia del gelso è molto diffusa in Italia: osservata per la prima volta a Montorio Veronese, essa è stata riscontrata nell' anno passato nei territori di Grezzana, Quinto e Poiano Valpantena; anche nel Ferrarese si è potuto constatare la presenza di questo male in campioni inviati in esame dal Sig. Marini. Nell' Emilia e soprattutto nei dintorni di Bologna quest' anno i gelsi hanno moltissimo sofferto per opera della Bacteriosi: dalle informazioni avute dal Sig. Prof. Cavazza, Direttore dell' Ufficio Agrario Provinciale, e dalle osservazioni compiute sopra luogo dal Prof. Cuboni, risulta che le prime tracce del male si resero evidenti nel 1892, — ciò venne confermato dall' esame di rami di due o tre anni nei quali erano evidenti ancora le lesioni causate dal parassita, — ma non ancora come in quest' anno si ebbero da lamentare danni così gravi.

Quest' anno il male ha assunto caratteri così minacciosi da impensierire seriamente molti agricoltori. Nell' Italia centrale è stato riscontrato il parassita in campioni di foglie e germogli provenienti dall' Abruzzo, dai tenimenti di Rosburgo dell' on. De Vincenzi, ed anche nelle Marche (Ascoli-Piceno) il Dr. Ugo Brizi ha potuto constatarne la presenza. Nel territorio di Rieti nei possedimenti dell' on. Principe Potenziani i gelsi ebbero a soffrire molto in seguito alla diffusione estrema che vi ha assunto il parassita. Nei rari gelsi che ho potuto osservare nei dintorni di Roma, mentre era abbondante il *Septogloeum Mori*, mancava assolutamente il *Bacillus Cubonianus*; dall' Italia Meridionale non si ebbe alcun caso di malattia causato da questo parassita.

\* \* \*



Finora le osservazioni fatte nelle diverse località d'Italia non hanno rilevato l'esistenza di varietà resistenti al male. Tutte le piante di una data località vi sembrano ugualmente soggette: così alla Scuola Agraria di Quinto erano colpite con uguale intensità tanto le piantine da seme, quanto quelle innestate colle varietà locali di gelso bianco, nonchè i gelsi primitivi Cattaneo. Può darsi però che con un maggior numero di osservazioni si possano rintracciare delle varietà che vadano meno delle altre soggette al male.

Inquanto ai rimedii non si può per ora indicare nulla di preciso, non essendosi eseguite delle prove in riguardo. Può darsi che l'uso di sostanze anticrittogamiche permetta di diminuire i danni che causa questa malattia, ma è noto che l'applicazione delle miscele finora in uso si deve eseguire sulla foglia di seconda cacciata, poichè i bachi rifiutano la foglia imbrattata o se costretti a consumarla, restano avvelenati. Le ricerche da eseguirsi allo scopo di prevenire il male devono porre in chiaro se vi siano da attendere risultati efficaci dai trattamenti invernali combinati coi trattamenti estivi a base di poltiglia bordeluse. È noto infatti che per prevenire altre malattie delle piante causate da batterii (rogna e mal nero della vite, rogna dell' ulivo, pear-blight etc.) si consigliano le lavature delle ferite all' epoca della potatura con soluzioni antisettiche (soluzioni sature di solfato ferroso). Per ora si può consigliare di asportare all' epoca della potatura di produzione la massima parte dei getti fortemente colpiti e bruciarli, modificando adeguatamente i criteri cui s'ispira di norma questa operazione. Si potranno quindi più corti del solito i getti dell' anno intensamente colpiti dal male e che non si possono asportare totalmente.

Roma, Novembre 1896.

#### Opere citate.

- 1) Cuboni e Garbini, Sopra una malattia del gelso in rapporto colla flaccidezza del baco da seta. (Rend. Accad. Lincei. Vol. VI. Fasc. 2. 1890.)
- 2) Boyer et Lambert, Sur deux nouvelles maladies du mûrier. (Comptes Rendus de l'Acad. d. sciences. 21 août 1894.)
- 3) Pasteur, Études sur les maladies des vers à soie. Paris 1870.
- 4) C. Ferry de la Bellone, Contribution à l'étude de la flâcherie. Paris 1874.
- 5) L. Macchiati, Contro l'azione alla biologia dei batterii dei bachi affetti da flaccidezza. (Stazioni sperim. italiane. Vol. XXI. Fasc. 2. 1891.)  
—, Lo Streptococcus bombycis e la flaccidezza del baco da seta. (Ibid. Vol. XXIII. 1892.)  
—, Sulla biologia del Bacillus Cubonianus. (Malpighia. Vol. V. 1892.)
- 6) P. Voglino, Ricerche intorno alle macchie nere delle foglie del gelso ed alla flaccidezza del baco da seta. (Coltivatore Anno XL No. 39. 1894.)
- 7) Briosi, Bollettino Notizie Agrarie. 1895.
- 8) Krassiltschichik, C. R. de l'Académie des sciences. 31 août 1896.

## Zusammenfassende Uebersichten.

*Nachdruck verboten.*

### Ueber das Chinosol.

Von

Dr. Franz Benecke.

#### Litteraturverzeichnia.

- 1) Bedall, Karl u. Fischer, Otto: Ueber Oxychinolin aus Chinolinsulfosäure. (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. Jahrg. XIV. 1881. No. 89. p. 442 ff. und No. 258. p. 1360 ff.)
- 2) Dieselben: Zur Kenntnis des Chinolins. (Berichte der deutschen chem. Ges. Jahrg XIV. 1881. No. 479. p. 2570 ff.)
- 3) Beddies, Alfr. u. Tischer, W.: Zur Kenntnis des Chinosols. [Aus dem amtlichen hygienischen Laboratorium zu Halberstadt.] (Deutsche Medizinalztg. 1896.)
- 4) Dieselben: Chinosol als Antisepticum und Heilmittel (Antipyreticum), chemisch, physiologisch-bakteriologisch und therapeutisch geprüft. [Aus dem aml. hygien. Laborat. zu Halberstadt.] (Allg. med. Centralztg. 1896. No. 59 u. 60.)
- 5) Bergmann, Vikt.: Chinosol, ein neues, wertvolles Ansisepticum. [Nach Untersuchungen im chemisch-bakteriologischen Institut von Dr. Aufrecht, Berlin.] (Zahnärztl. Wochenbl. Jahrg. X. 1896. No. 473.)
- 6) Bimmermann (Amsterdam): Ueber Chinosol. (Abdruck eines brieflichen Gutachtens vom 26. XII. 1895.)
- 7) Chattaway, Wm. F. J. C. and Pearmain, Thos. H. (London): Chinosol, a powerful germicide. (Abdruck eines brieflichen Gutachtens vom 2. III. 1896.)
- 8) Donath, Jul.: Physiologische und physiologisch-chemische Wirkungen des Chinolins. (Berichte der Deutschen chem. Ges. Jahrg XIV.. 1881. No. 41. p. 178 ff.)
- 9) Emmerich, R.: Oxychinaseptol oder Diaphterin, ein neues Antisepticum. (Münch. med. Wochenschr., 1892. No. 18.)
- 10) Derselbe: Ueber Chinosol. (Abdruck eines brieflichen Gutachtens vom 25. VII. 1895.)
- 11) Grunert, Otto: Ueber Chinosol. (Verhandl. deutscher Naturforscher und Aerzte. 17. IX. 1895.)
- 12) Jensen, W.: Etwas über Chinosol. (Deutsches Verkehrsgewerbe. 1896. No. 18.)
- 13) Kossmann, R.: Chinosol als Antisepticum. (Centralblatt für Gynäkologie. 1895. No. 52.)
- 14) Möller: Ueber Chinosol. (Sportwelt. X. Jahrg. No. 164. vom 12. IX. 1896.)
- 15) Ostermann, H.: Chinosol als Antisepticum in Geburtshilfe und Gynäkologie. (Therapeutische Monatshefte. März 1896.)
- 16) Rapp: Tierversuche mit Chinosol und entwicklungshemmende Wirkung desselben. [Untersuchungen des hygienischen Instituts zu München.] Abdruck eines brieflichen Gutachtens vom 25. VII. 1895.)
- 17) Rohrer, F.: Versuche über die antibakterielle Wirkung des Oxychinaseptols (Diaphterin). [Aus dem hygienischen Institute der Universität Zürich.] (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. XIII. 1893. No. 17. p. 551 ff.)
- 18) Derselbe: Ueber Chinosol. (Abdruck eines brieflichen Gutachtens vom 25. VIII. 1895.)
- 19) Stabel, Heinrich: Ueber Desinfektionswert, pharmakologische Wirkung und therapeutische Anwendung des Oxychinaseptols und verwandter Chinolinderivate. (Inaugural-Dissertation der Univ. München. 1893.)
- 20) Steenhuisen, L. E.: Over Chinosol-onderzoekingen uit het pharmaceutisch Laboratorium te Leiden. (Nederlandsch Tijdschrift voor Pharmacie, Chemie en Toxicologie. Jaargang VIII. 1896. p. 134 ff.)
- 21) Ziegler, Josef, Ueber molekulare Umlagerungen in der Chinolinreihe. (Inaugural-Dissertation der Univ. Erlangen. 1888.)

Die Ansprüche, die an ein Antisepticum gestellt werden, sind heute weit höhere als in ehemaliger Zeit. Es genügt nicht mehr,

daß das betreffende Präparat sicher antiseptisch wirkt, sondern mit vollem Recht muß ganz besonders gefordert werden, daß dasselbe nicht giftig ist und also auch keine schädlichen Nebenwirkungen herbeiführt; ferner soll es ein nicht hygroskopischer und dennoch ein in Wasser sehr leicht löslicher, fester Körper sein, dessen Lösung von unbegrenzter Haltbarkeit ist; das Präparat darf auch keinen unangenehmen Geruch verbreiten, keinen Verwechselungen ausgesetzt sein und muß endlich chemisch rein und zugleich zu einem billigen Preise in den Handel gelangen.

Daß diesen strengen Anforderungen Karbolsäure und Sublimat keineswegs entsprechen, ist unnötig hervorzuheben; man braucht nicht einmal medizinische Zeitschriften zu lesen, sondern erfährt ja schon aus den Tageblättern immer wieder neue Fälle, durch welche Krankheiten und Todesfälle selbst dann herbeigeführt werden, wenn die Anwendung jener Antiseptica und Desinfektionsmittel von berufener Seite geschah. Um nur ein Beispiel anzuführen, erwähne ich die Warnung vor Karbolsäure, welche Prof. Dr. J. Rosenbach-Göttingen 1896 in der medizinischen Zeitschrift „Die Praxis“ unter dem Titel „Ueber die Gefahr der Karbolgangrän nach äußerlicher Anwendung der Karbolsäure“ veröffentlichte. „Der Verf. berichtet über eine Reihe von Fällen, in denen nach Anwendung von schwachen Karbollösungen (das in der Apotheke käufliche Karbolwasser ist 3-proz.)“ „zu Umschlägen oft schon nach wenigen Stunden Brand der betreffenden Körperstellen eintrat. Meist handelt es sich um Finger, die auf diese Weise verloren gingen“<sup>1)</sup>.

Wäre es gelungen, ein Präparat mit den vorher aufgezählten Vorzügen zu entdecken, so wäre zweifellos außerordentlich viel gewonnen; würden demselben aber überdies noch andere Eigenschaften zukommen, welche es uns nicht nur als Antisepticum und Desinfektionsmittel wertvoll machen, sondern welche der medizinischen Wissenschaft und der Hygiene im besonderen auch nach anderen Richtungen zu großem Nutzen reichen und welche außerdem uns das Präparat noch über diesen schon weiten Rahmen hinaus hochschätzen lassen, dann wäre die Entdeckung eines solchen Mittels eine epochemachende.

Die Patentinhaber des Chinosols erklären in ihren Prospekten, dasselbe sei „ein wahrer Talisman“. Mit Recht stehen wir derlei Ankündigungen sehr skeptisch gegenüber; die Regel ist doch die, daß ein Produkt um so weniger wert ist, je mehr Gutes in dem Inseratenteil und mitunter auch leider noch in anderen Teilen unserer Tageblätter von ihm verkündet wird; insbesondere sind wir aber recht mißtrauisch, wenn es sich dabei um ein „Universalmittel“ oder einen „Talisman“ handelt. Jede Regel hat ihre Ausnahmen und deswegen ist es sehr lobenswert, wenn die Vertreter der Wissenschaften nicht jede derartige Ankündigung ohne weiteres dem Papierkorb anvertrauen, sondern sich darüber orientieren, ob sich nicht vielleicht doch ein Studium des Präparates lohnt. Bereits aus dem vorangestellten Litteraturverzeichnis ist zu ersehen, daß beim Chinosol

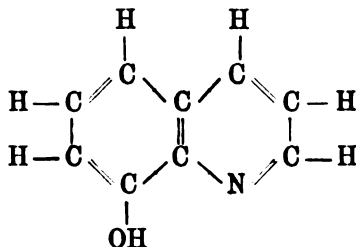
1) Ganz gleich ungünstig lautet eine „Ueber Karbolgangrän“ betitelte Mitteilung, welche Dr. Leusser-Münnerstadt in „Münch. med. Wochenschr.“ vom 14. April 1896 veröffentlichte.

die Wissenschaft sich wirklich veranlaßt sah, eine Ausnahme zu machen. Der Zweck dieser kleinen Abhandlung ist, zu zeigen, zu welchen Ergebnissen die wissenschaftliche Forschung bisher gelangt ist, und wir werden daraus ersehen, wie weit der recht viel sagende Ausdruck „Talisman“ berechtigt ist. Daß dieser Ausdruck nicht im strengsten Sinne aufgefaßt werden darf, davon wird wohl ein jeder von vornherein überzeugt sein.

Erst seit Mai 1895, zu welcher Zeit die deutsche Erfindung bei unserem Patentamt angemeldet wurde, haben wir Kunde von dem Chinosol. Die Patentinhaber wandten sich sofort an Männer der Wissenschaft, um durch dieselben den Wert ihres Präparates prüfen zu lassen, und zwar zunächst an Emmerich in München. Dessen sowie die Gutachten anderer wurden gedruckt und bekannt gegeben, wodurch denn andere Forscher angeregt wurden, auch ihrerseits Versuche über den Wert des Chinosols anzustellen. Bei der Neuheit der Erfindung können wir nicht erwarten, daß bereits eine größere Zahl wissenschaftlicher Arbeiten über den Gegenstand vorliegt oder daß die Untersuchungen gar schon als abgeschlossen zu betrachten seien, aber die wenigen erschienenen Abhandlungen sind doch wertvoll genug, um einen allgemeinen Leserkreis auf die Ergebnisse derselben aufmerksam zu machen und dadurch weit allgemeiner, als es bis jetzt geschah, zu Versuchen anzuregen.

Selten wird eine Erfindung ohne Zusammenhang mit vorausgegangenen Entdeckungen gemacht. So hat denn auch das Chinosol seine Vorgänger.

Schon im Jahre 1881 wies Donath (8) nach, daß dem Chinolin „antiseptische, antizymotische und antipyretische Eigenschaften“ zukommen. In demselben Jahre fanden Bedall und Fischer (1 u. 2) einen Körper, den man gewissermaßen als ein Phenol des Chinolins betrachten darf, nämlich das Chinophenol, von ihnen o-Oxyschinolin ( $C_9H_7OH$ ) genannt<sup>1)</sup>. Die chemische Konstitutionsformel desselben ist:



Diese Formel zeigt, daß das o-Oxyschinolin die Eigenschaft einer Base mit der eines Phenols in sich vereinigt. Da nun die Base infolge ihres Pyridinstickstoffes mit Chinin verwandt ist, so schloß O. Fischer daraus, daß aus diesem Körper ein antifibrines Mittel erhalten werden könne. Die Richtigkeit dieser theoretischen Betrachtung wurde durch das seiner Zeit von den Farbwerken in

1) Weidel (Monatshefte der Wiener Akademie 1880) war der Entdecker des Chinophenols und nach Obigem also auch der erste Entdecker des o-Oxyschinolins.

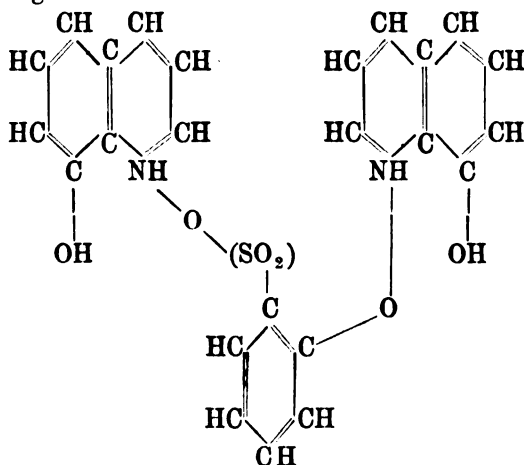
Höchst in den Handel gebrachte und von O. Fischer erfundene Kafrin bewiesen. Die Leitung der Fabrikation dieses Stoffes war Ziegler<sup>1)</sup> übertragen und dieser beobachtete, daß das Oxychinolin, aus welchem das Kafrin gewonnen wurde, überraschend günstig auf frische Wunden einwirkte. Weitere Beobachtungen führten Ziegler dazu, das in Wasser fast unlösliche Oxychinolin in geeignete salzartige, wasserlösliche Verbindungen überzuführen. Die gewöhnlichen Salze (z. B. das Sulfat und Tartrat des Oxychinolins) erwiesen sich ihres sauren Charakters wegen für den ins Auge gefaßten Zweck als völlig ungeeignet. Infolgedessen suchte Ziegler eine Verbindung des Oxychinolins mit der milder als Karbolsäure wirkenden o-Phenolsulfosäure, dem Aseptol, herzustellen. In gewöhnlicher Weise gelang solche Vereinigung nicht, wohl aber erhielt Ziegler eine schön krystallisierende Verbindung, als er ein Mol.-Gewicht Phenol, zwei Mol.-Gewichte Oxychinolin und ein Mol.-Gewicht Schwefelsäure in der Wärme aufeinander einwirken ließ<sup>2)</sup>. Auf diese Weise entstand das Oxychina-septol oder Diaphtherin.

Dieses Produkt nun wurde (neben einer ganzen Reihe ähnlicher Präparate) Emmerich zugestellt. Er, sowohl als seine Schüler, haben sehr wertvolle und interessante Studien über das Oxychina-septol veröffentlicht (9 u. 17)<sup>3)</sup>.

Das Oxychinasseptol stellt nach Emmerich „eine labile Verbindung von 1 Molekül Oxychinolin mit dem ebenfalls neuen phenol-sulfonsauren Oxychinolin dar.“

„Es besitzt“, nach Emmerich, „die Formel:

$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_6\text{NH}-\text{O}-\text{SO}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-\text{NHC}_6\text{H}_6-\text{OH}$   
oder weiter aufgelöst:



1) Auf meine Bitte stellte mir Herr Dr. J. Ziegler eine schriftliche Mitteilung zu, welcher ich die in diesem Absatz gemachten Angaben entlehnte.

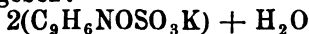
2) Die Wahl dieses Verfahrens sowie überhaupt die Entdeckung des Oxychinasseptols durch Ziegler hängt mit seiner Dissertationsarbeit (21) zusammen.

3) Daß sich Emmerich sowohl als auch seine Schüler anscheinend über die chemische Konstitution des Oxychinasseptols täuschten, darüber vergl. man nächste Nummer dieser Zeitschrift.

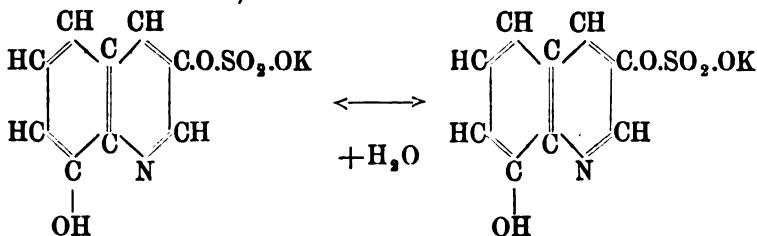
d. h. also, das Oxychinaseptol ist eine Verbindung, die man sich aus 2 Mol. Oxychinolin und 1 Mol. Aseptol, d. i. Phenolsulfonsäure, entstanden denken kann, so daß der erst dreiwertige Stickstoff des Oxychinolins durch die chemische Vereinigung mit Aseptol, wie die aufgelöste Formel zeigt, fünfwertig wird.“

Auch das ebenfalls von Ziegler entdeckte Chinosol ist eine Oxychinolinverbindung<sup>1)</sup>. Steenhuisen (20. p. 136) führt die Formel  $C_9H_6NOSO_3K + H^2O$

an, während Beddies und Tischer in ihrer zweiten Abhandlung (4) als Formel geben:

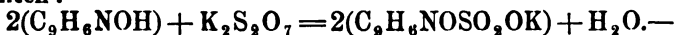


und mitteilen, daß die von ihnen ausgeführten Analysen dafür Gewähr bieten, daß das Chinosol besteht aus zwei Oxychinolin-Molekülen, in welchen das eine, Wasserstoffatom, durch  $O.SO_3.K$  ersetzt ist, und einem Molekül Wasser, also:



Ob das Molekül Wasser als Krystallwasser oder in anderer Weise aufzufassen ist, wurde bisher nicht ermittelt und ist sicherlich überhaupt noch hinter die Konstitutionsformel ein Fragezeichen zu setzen.

Das Chinosol wird (4) aus o-Oxychinolin und Kaliumpyrosulfat in alkoholischer Lösung gewonnen und kann man den chemischen Umsetzungsprozeß als nach der folgenden Gleichung vor sich gehend betrachten:



Nach den Untersuchungen der verschiedenen Forscher (3, 4, 5, 7, 10, 20) kommen dem Chinosol, wie es in den Handel gebracht wird, folgende chemische<sup>2)</sup> und physikalische Eigenschaften zu: Es ist ein krystallinisches, schwefelgelbes und nicht hygroskopisches Pulver, welches in jedem Verhältnis in Wasser außerordentlich leicht löslich ist und eine klare, neutrale und leicht diffundierende Lösung von unbegrenzter Haltbarkeit giebt und welches nach Emmerich (10) „selbst in konzentriertem, festem Zustande nicht ätzt“ und „bei gewöhnlicher Temperatur<sup>3)</sup> das Eiweiß nicht koaguliert“. Es ist noch hinzuzufügen, daß das Chinosol mit vielen Metallen, von denen das

1) Da vom Entdecker selbst keine Mitteilung im Druck erschienen ist, muß ich mich hier ausschließlich an die Veröffentlichungen derjenigen Forscher halten, welche sich späterhin mit dem Gegenstande beschäftigt haben.

2) Komplizierte chemische Reaktionen bleiben unerwähnt.

3) Auch bei Bluttemperatur führt das Chinosol keine Koagulierung des Eiweißes herbei.

Eisen insbesondere hervorzuheben ist, leicht Verbindungen eingeht und daß es sich selbst in äußerst schwach alkalischen Lösungen unter Entbindung von Oxychinolin zersetzt. (Diese letztere Eigenschaft ist von großer Bedeutung, weil ja das Blut alkalische Reaktion besitzt.)

Die Wirkung des Chinosols auf das Leben von Bakterien wurde von verschiedenen Seiten studiert. Ueber die bakterientötende Kraft, die dem Chinosol im Vergleich zu anderen Desinfektionsmitteln zukommt, entlehne ich der Arbeit von Beddies und Tischer (4) die nachfolgenden Tabellen.

Steriles Trinkwasser wurde mit verschiedenen Formen saprophytischer Wasserbakterien in vegetativen Formen aus frischen Rein-kulturen beschickt und sodann desinfiziert. Das Ergebnis war:

Verhältnis des angewandten Desinficiens	Zeit der Einwirkung und Befund	
	2 Stunden	4 Stunden
Karbolsäure 1: 500	— <sup>1)</sup>	—
" 1: 800	+	+
" 1: 1 000	+	+
Chinosol 1: 5 000	—	—
" 1: 10 000	—	—
" 1: 15 000	—	—
" 1: 20 000	+	—
" 1: 30 000	+	+
" 1: 40 000	+	+

Zu einem anderen Versuche benutzten genannte Autoren unsteriles, schlammiges Schmutzwasser:

Verhältnis des angewandten Desinficiens	Zeit der Einwirkung und Bakterienanzahl pro ccm		
	2 Stunden	4 Stunden	6 Stunden
Chinosol 1: 10 000	170 000	80 000	12 000
Karbolsäure 1: 1 000	10 000 000	4 200 000	2 300 000
Lysol 1: 1 000	17 000 000	11 000 000	8 000 000
Saprol 1: 1 000	20 000 000	18 000 000	12 000 000
Unbehandeltes Rohwasser	22 000 000		

Eine absolute Desinfektion konnte nicht erwartet werden, aber die außerordentlich hohe Ueberlegenheit des Chinosols gegenüber der Karbolsäure wurde doch auch hier zur Evidenz nachgewiesen. Dasselbe zeigt sich beim Verhalten gegenüber pathogenen Bakterien. Zwei Stunden alte, feste Nährbodenkulturen verhielten sich bei dreistündiger Einwirkung gegenüber Chinosol und Karbolsäure folgendermaßen:

- 1) — bedeutet: kein Wachstum, Abtötung.  
+ bedeutet: Wachstum, keine Abtötung.

Desinfektionsverhältnis	Diphtherie	Milzbrandbacillus	Typhus	Cholera asiatica	Staphylococcus pyogenes aureus
Karbolsäure 1 : 1 000	+	+	+	+	+
„ 1 : 800	+	+	+	+	+
„ 1 : 500	—	+	+	—	+
„ 1 : 250	—	—	+	—	—
Chinosol 1 : 20 000	+	+	+	+	+
„ 1 : 15 000	+	+	+	+	+
„ 1 : 10 000	—	+	—	—	+
„ 1 : 8 000	—	—	—	—	—
„ 1 : 5 000	—	—	—	—	—
„ 1 : 1 000	—	—	—	—	—

In einem Desinfektionsversuche, bei welchem Chinosol mit Sublimat, Karbolsäure, Lysol, Kreosol und Kreolin verglichen wurde und bei welchem es sich um die Wirkung auf den Diphtherieerreger handelte, zeigte sich das Sublimat dem Chinosol, dieses aber allen anderen überlegen. Bei einem mit dem Cholerabacillus angestellten Desinfektionsversuche war das Chinosol weit wirksamer als Sublimat. In Bezug auf an Seidenfäden angetrockneten Milzbrandsporen erwies sich eine 5-proz. Chinosollösung ebenso wirkungslos, wie es für eine gleich starke Karbollösung bekannt ist. Dahingegen ist die entwicklungshemmende Kraft des Chinosols auf in Bouillon gezüchtete Milzbrandbacillen eine äußerst große. Dasselbe gilt gegenüber dem *Staphylococcus pyogenes aureus*, und Beddies und Tischer kommen zu dem Schlusse, daß das Chinosol eine „über 40 mal wirksamere Energie“ als die Karbolsäure besitzt. Rapp (16) war in Bezug auf die entwicklungshemmende Wirkung des Chinosols auf den *Staphylococcus pyogenes aureus* zu demselben Resultate schon früher gekommen. Chinosol 1 : 40 000 hemmte noch vollständig, Phenol nur bei 1 : 500, während bereits bei 1 : 1000 die Hemmung ausblieb. Auch Chattaway und Pearmain (7) schreiben dem Chinosol eine 40 mal stärkere entwicklungshemmende Kraft als der Karbolsäure zu und außerdem eine 10 mal stärkere gegenüber dem Sublimat. Bergmann (5) verglich Karbolsäure, Lysol, Loretin und Jodoform mit Chinosol und gelangte ebenfalls zu für letzteres recht günstigen Resultaten. Steenhuisen (20) prüfte wie Rapp nur die Wirkung des Chinosols auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. Das Ergebnis seiner Untersuchungen ist, daß dieser sehr schwer durch Chinosol getötet wird, daß aber die Entwicklung desselben in Nährgelatine „in merkwürdig hohem Maße“ gehemmt wird. Chinosol in Lösung von 1 : 200 000 (!!!) soll, nach ihm, selbst nach 12 Tagen die Entwicklung noch vollständig hemmen, während es Sublimat 1 : 50 000 nicht mehr vermochte, und von Karbolsäure eine Lösung von 1 : 1000 schon nicht mehr völlig entwicklungshemmend wirkte.

Besonders erwähnenswert erscheinen mir noch die Arbeiten von Emmerich (9), Rohrer (17) und Stabel (19). Es handelt sich bei diesen um die antibakterielle Wirkung des Oxychinaseptols, das



als unmittelbarer Vorläufer des Chinosols bezeichnet werden kann. Emmerich verglich die bakterientötende Wirkung des Oxychinaseptols mit der von Karbolsäure, Kresolverbindungen, Lysol u. s. w. gegenüber *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Bacillus pyocyaneus*, Koch's *Cholerabacillen*, Loeffler's *Diphtheriebacillen* u. a. Das Ergebnis faßt Emmerich selbst folgendermaßen zusammen: „Aus meinen Versuchen ergibt sich, daß das Oxychinaseptol in Bezug auf seine bakterienvernichtenden Wirkungen den am stärksten wirkenden Antiseptics, wie Phenol, Lysol, Kresol etc. an die Seite gestellt werden muß, ja sogar manche derselben übertrifft.“ Dabei ist zu erwähnen, daß die schwächsten Lösungen des Oxychinaseptols, die angewandt wurden, 1 : 1000 waren.

Rohrer wiederholte die Versuche von Emmerich und giebt folgendes „Resumé“: „Das Resultat der Versuchsserien ist ein positives und trotz anderer Anordnung mit dem von Emmerich l. c. gefundenen übereinstimmend, das Oxychinaseptol entfaltet eine hervorragende entwicklungshemmende Einwirkung auf Reinkulturen und Mischkulturen von Eiterbakterien, sowie auf Reinkulturen von Milzbrand. Die 1-proz. Lösung von Oxychinaseptol hemmt die Entwicklung von *Staphylococcus pyogenes aureus* bei Zusatz von 2—4 Tropfen zu 9—12 ccm Bouillon, während Mischkulturen aus Ohr-eiter bei Zusatz von 3—4 Tropfen zu 12 ccm Bouillon gehemmt werden. Gegen Milzbrand erwiesen sich Lösungen von 1 Proz. und 0,5 Proz. Oxychinaseptol bei Zusatz von 1—4 Tropfen zu 12—14 ccm Bouillon als wirksam zur Hemmung der Entwicklung.“ Auch Rohrer operierte nur mit Oxychinaseptollösungen von 1 : 1000. Stabel setzte die Arbeit von Emmerich fort. Das Resultat seiner Untersuchungen lautet: „Es ist die entwicklungshemmende Wirkung des Oxychinaseptols der des Lysols und der Karbolsäure bei weitem überlegen, so beim *Staphylococcus pyogenes aureus* dem Lysol um das 40-fache, beim *Bacillus pyocyaneus* um das 10-fache, bei der Hühnercholera um das 60-fache und beim Typhus um das 50-fache.“ Stabel wandte Verdünnungen bis zu 1 : 100 000 bei seinen Versuchen an. Für *Staphylococcus pyogenes aureus* lag die Grenze der Wirksamkeit zwischen 1 : 40 000 und 1 : 50 000, für *Bacillus pyocyaneus* einmal zwischen 1 : 20 000 und 1 : 24 000, ein anderes Mal zwischen 1 : 10 000 und 1 : 16 000, für den *Bacillus* der Hühnercholera zwischen 1 : 60 000 und 1 : 80 000, für den *Typhusbacillus* zwischen 1 : 25 000 und 1 : 30 000 und endlich für den Koch'schen *Cholerabacillus* zwischen 1 : 30 000 und 1 : 40 000.

Diese von Emmerich, Rohrer und Stabel für das Oxychinaseptol erhaltenen Resultate sind mit den für das Chinosol von Beddies und Tischer, Rapp, Chattaway und Pearmain, Bergmann und Steenhuisen gefundenen durchaus nicht vergleichbar, wie jeder Kundige ohne weiteres zugeben muß; die Bedingungen, unter welchen die verschiedenen Autoren arbeiteten, waren ja durchaus verschiedene. Wir wissen also zunächst nicht, ob dem Oxychinaseptol oder dem Chinosol eine stärkere Wirkung zukommt. Da nützt uns auch die Mitteilung von Emmerich nicht viel, welche in Bezug auf das Chinosol lautet (10): „Die entwicklungshemmende Wirkung macht sich selbst in außerordentlicher Verdünnung (1 : 40 000)

noch sehr bemerklich.“ Rohrer (18) dagegen sagt: „Das Chinosol besitzt alle früher von mir hervorgehobenen vorzüglichen antiseptischen Eigenschaften des Diaphtherins (Oxychinaseptols) in erhöhtem Grade“. Aus dieser Mitteilung muß geschlossen werden, daß Rohrer unter gleichen Bedingungen die Wirkung des Oxychinaseptols und die des Chinosols geprüft hat. Das Ergebnis, in Zahlen ausgedrückt, würde uns belehren, inwieweit das Chinosol seinen Vorgänger, das Oxychinaseptol, übertrifft.

Es muß hier anschließend bemerkt werden, daß Dr. Josef Ziegler, welcher, wie ich bereits mitteilte, sowohl der Entdecker des Oxychinaseptols als auch der des Chinosols ist, später (d. h. bei bezw. nach der Entdeckung des Chinosols) allein schon auf Grund theoretischer Erwägungen im Chinosol ein wirksameres und zugleich weniger giftiges Präparat sah als im Oxychinaseptol. Emmerich (9) legte hohen Wert auf die Verbindung des Oxychinolins mit der Pheno'sulfonsäure. Im Oxychinaseptol soll Oxychinolin mit dieser verbunden sein. Diese Ansicht hatte auch Ziegler ursprünglich, aber sie wurde von ihm bald aufgegeben. Da er feststellte, daß sich der wässerigen Lösung des Oxychinaseptols das Phenol durch Schütteln mit Aether vollständig entziehen läßt, sieht er heute das Oxychinaseptol als eine sehr lose Verbindung von Oxychinolinsulfat mit Phenol an und stellt sich letzteres als Krystallphenol vor<sup>1)</sup>. Nach seiner früheren Ansicht und der früher auch von Emmerich vertretenen Meinung sollte die Phenolsulfonsäure gerade die antiseptische Wirkung des Oxychinolins erhöhen. Wenn nun aber die Anschauung von Emmerich über die Struktur des Oxychinaseptols nicht die richtige ist, sondern das Phenol wirklich nur die Rolle von Krystallphenol spielt oder wenigstens mit dem Oxychinolinsulfat nur eine sehr lockere molekulare Verbindung eingeht, so kann man allerdings, da doch der Beweis erbracht ist, daß Oxychinolin kräftiger als Phenol wirkt, schon allein vom theoretischen Standpunkte aus begreifen, daß dem Chinosol eine höhere entwickelungshemmende Kraft als dem Oxychinaseptol zukommt. Bereits aus diesem Grunde mußte das Bestreben herrschen, Oxychinolin nicht mit Phenol in Verbindung zu bringen; entscheidend aber war, daß dem Phenol giftige Eigenschaften zukommen und deshalb das Phenol überhaupt vermieden werden mußte. Dies wurde durch die Herstellung des Chinosols von Ziegler erreicht. Da nun das Phenol ja auch äußerst leicht Reizerscheinungen hervorruft, so ist (von dem erläuterten Standpunkte aus) ebenfalls verständlich, wenn Rohrer (18) mitteilt: „Das bei Oxychinaseptollösungen gleicher Konzentration manchmal beobachtete Brennen kommt beim Chinosol viel weniger vor und ist rasch vorübergehend.“ In diesen und anderen Angaben können wir vielleicht eine indirekte Bestätigung dafür sehen, daß das Oxychinaseptol thatsächlich nur eine lose Verbindung von Oxychinolinsulfat mit Phenol ist und es würde demnach der für die Chemie interessante Fall vorliegen, daß Beobachtungen des Arztes die Theorien des Arztes stützen resp. entkräften können. (Schluß folgt.)

1) Diese Sätze entnehme ich ebenfalls<sup>2)</sup> der mir auf mein Ersuchen von Herrn Dr. J. Ziegler gestellten schriftlichen Mitteilung.

## Referate.

**Lagervall, Algot, Redogörelse för några undersökningar rörande bakterierna i vatten, luft och jord. (Redogörelse för verksamheten vid Ultuna landbruksinstitut under året 1895.)**

1) **Vattenundersökningar.** Die Bakterienzählungen wurden vorgenommen im Herbst 1894 an Proben, die an sechs verschiedenen Stellen der Fyris, jedesmal an demselben Tage entnommen waren. Die betreffende Flußstrecke ist ca. 10 km. Oberhalb der Versuchsstrecke durchfließt das Flußchen mehrere Meilen eine nur schwach bevölkerte Ebene, geht dann durch die Stadt Upsala (23 000 Einwohner), nimmt unterhalb der Stadt ihren Zufluß von der dort gelegenen Irrenanstalt (550 Bewohner), ferner vom landwirtschaftlichen Institute Ultuna (180 Einwohner), passiert dann eine seeähnliche beckenförmige Erweiterung und fällt endlich beim Orte Flottsund in den Mälarsee.

Die nachstehenden Ziffern sind teils Durchschnittswerte von Zählungen der Aëroben pro 1 ccm Wasser an vier verschiedenen Tagen im September-Oktober, teils das Resultat von einmaliger Anaërobenzählung:

	Upsala			Irren- haus	Ultuna	Flottsund
	I	II	III			
Aëroben, Durchschn. .	712	3075	15 405	74 601	132 482	31 062
Anaëroben . . . . .	20	112	248	4080	2808	—
Durchschn. Sauerstoff- Verbrauch pro Liter .	11,35	11,13	11,63	10,85	11,77	11,14

Man sieht, wie das Durchlaufen des Wassers durch die genannte Erweiterung den nach dem Passieren der menschenreichen Gegenden stark erhöhten Bakteriengehalt wieder beträchtlich hinunterbringt, ein analoger Fall zu demjenigen bei der Havel beobachteten.

Ein Parallelismus zwischen Bakteriengehalt und Sauerstoffverbrauch bei der Oxydation der organischen Substanz des Wassers mit Permanganat geht aus den gleichzeitig vorgenommenen Untersuchungen nicht hervor.

Einige andere Reihen von Bakterienzählungen zeigten stets eine größere Anzahl Bakterien im Oberflächenwasser als in der Tiefe des Stromes, und ebenfalls, daß die Zahl der Bakterien von der Mitte des Stromes bis zum Ufer abnimmt.

Verf. beschreibt die Wachstumsart der Kolonien, sowie das Aussehen der Bakterien in 9 Einzelfällen.

2. **Jord-, luft- und vattenundersökningar.** Bei den monatlichen Untersuchungen der Bakterienanzahl wurde als Nährboden eine Molkengelatine verwendet, wobei sich im Fyriswasser eine beträchtlich niedrigere Zahl erwies als bei den obengenannten Zählungen, wo eine Fleischextrakt-Peptongelatine benutzt wurde. Der Bakteriengehalt pro ccm Fyriswasser, bei Ultuna entnommen, zeigte sich nämlich bei dieser Untersuchungsreihe nur zwischen 2025 (April) bis

90 325 (August) schwankend, ohne daß jedoch eine Uebereinstimmung zwischen der Bakterienzahl und der Temperatur des Wassers zu herrschen schien. Mehr als die Temperatur scheinen die Niederschlagsverhältnisse den Bakteriengehalt des Flußwassers zu beeinflussen.

Im Boden variierte die Zahl der Bakterien pro 1 g Boden in 3 cm Bodentiefe zwischen 930 000 (Mai) und 15 100 000 (Februar), ohne daß irgend ein regelmäßiger Zusammenhang zwischen Bakteriengehalt und Jahreszeit hervorgeht.

Gleichzeitig mit der Bakterienzählung wurde auch eine Bestimmung der entwickelungsfähigen Sporen vorgenommen. Die letzteren machten in den vorliegenden Fällen von 23,8 Proz. (Februar) bis 94,2 Proz. (April) des totalen Bakteriengehaltes aus. Es war hierbei auffallend, daß die Bodenbakterien sich nur wenig rüsten zum Widerstehen der Winterkälte durch Sporenbildung. Sie scheinen ganz im Gegensatz trotz der Winterkälte in bedeutender Menge im vegetativen Stadium aufzutreten.

Der Bakteriengehalt der Luft war nur gering; 0—5 Stück pro 10 l Luft, ohne nachweisbare Abhängigkeit von der Jahreszeit.

John Sebelien (Ås in Norwegen).

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Karawalew, Ein neuer Thermostat ohne Gasbenutzung.**  
(Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. XIII. 2.)

Verf. beschreibt einen mit Petroleum oder Benzin heizbaren Thermostaten, der sich durch elektrischen Kontakt automatisch reguliert. Wenn die Temperatur, auf die der Apparat eingestellt ist, überschritten wird, so wird durch ein im Innenraum angebrachtes Luftthermometer eine Quecksilbersäule bis zum Kontakt mit einer Platinspitze emporgehoben und so ein Strom geschlossen, der auf einen Elektromagneten wirkt. Die Kraft des Magneten wird auf eine bewegliche metallische Platte übertragen, die sich zwischen die Heizflamme und den Boden des Thermostaten schiebt und so die direkte Erwärmung desselben solange verhindert, bis durch Sinken des Thermometers der Kontakt sich wieder löst.

Der Verf. selbst hat bisher nur einen kleinen Apparat zum Zwecke der Paraffineinbettung nach diesem Prinzip konstruiert und denselben nicht über 12 Stunden arbeiten lassen, während dieser Zeit giebt er an, keine Schwankungen über  $\frac{1}{4}^{\circ}$  gehabt zu haben. Er glaubt jedoch, daß die Anwendung desselben Prinzips für größere Apparate zu bakteriologischen Zwecken möglich sei. Ein der beschriebenen Konstruktion anhaftender Uebelstand, nämlich die Abhängigkeit des Luftthermometers von Barometerschwankungen, ließe sich durch Anwendung eines Thermoregulators nach Rohrbeck vermeiden.

Neufeld (Berlin).

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

**San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,**  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

**Biedert**, Ueber bakteriologische und hygienische Arbeitsstätten (Centralstationen). (Arch. f. ö. Gesundheitspf. in Elsaß-Lothringen. Bd. XVII. 1896. Heft 3. p. 191—197.)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

**Capaldi, A.**, Zur Verwendung des Eidotters als Nährbodenzusatz. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 22/23. p. 800—803.)

**Lajoux, H. et Cordier, J.**, Sur un procédé de recherche des particules solides tenues en suspension dans les liquides; application à la microbiologie. (Union méd. du Nord-Est. 1896. 30. oct.)

**Nowak, J. u. Ciechanowski, S.**, Ueber Krystallbildung in den Nährmedien. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 18/19. p. 679—680.)

**Wróblewski, V.**, Ueber das Wachstum einiger pathogener Spaltpilze auf den Nebennierenextraktnährböden. (Centralbl. f. Bakteriologie. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 14/15. p. 528—535.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

**Barbet, E.**, Sur les difficultés que l'on éprouve en fermentation au début des campagnes de betteraves. (Bullett. de l'assoc. d. chim. — Journ. de la distillerie franç. 1896. No. 651. p. 561—563.)

**Bial, M.**, Ueber den Mechanismus der Gaseärungen im Magensaft. Zugleich ein Beitrag zur Biologie des Hefepilzes. (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmacol. Bd. XXXVIII. 1897. Heft 1/2. p. 1—84.)

**Bidrag til kundskaben om Norges soparter.** IV. Peronosporaceae, Chytridiaceae, Protomycetaceae, Ustilaginaceae, Uredineae af A. Blytt. (Christ. vidensk.-selsk. forhandl. 1896. No. 6.) 8°. 75 p. Christiania (Dybwad) 1896.

**Biel, W.**, Ueber einen schwarzes Pigment bildenden Kartoffelbacillus. [Inaug.-Diss. Kiel.] 8°. 8 p. Jena (Fischer) 1896.

**Bokorny, Th.**, Die organische Nahrung der Bakterien- und Hefe-Zellen; Beziehung der Nährkraft zur chemischen Konstitution. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1896. No. 138, 140. p. 2411—2412, 2449—2450.)

**Bouillhae, E.**, Sur la fixation de l'azote atmosphérique par l'association des algues et des bactéries. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 20. p. 828—830.)

**Bourquelot, E.**, Sur l'emploi du gaiacol comme réactif des ferments oxydants. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 28. p. 896—897.)

**Effront, J.**, Etude sur le levain lactique. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1896. No. 9. p. 524—544.)

**Figdor, W.**, Ueber Cotylanthra Bl. Ein Beitrag zur Kenntnis tropischer Parasiten. (Annal. du jardin botan. de Buitenzorg. 1896. p. 213—240.)

**Forti, C.**, Relazione sugli studi zimotecnici eseguiti presso la fondazione per l'istruzione agraria in Perugia a tutto il 1895. (Bollett. di notiz. agrarie. 1896. No. 37. p. 363—413.)

**Friedenthal, H.**, Ueber den Einfluß der Induktionselektrizität auf Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 14/15. p. 505—508.)

**Issatschenko, B.**, Ueber die parasitischen Pilze des Gouvern. Cherson. (Sep. Bot. labor. d. Univers. Petersburg. 1896.) 8°. 26 p. [Russisch.]

**Kayser, E.**, Levures sélectionnées. (Journ. de la distillerie franç. 1896. No. 651. p. 563—564.)

**Lafar, F.**, Technische Mykologie. Ein Handbuch der Gärungsphysiologie für technische Chemiker, Nahrungsmittel-Chemiker, Gärungstechniker, Agrikultur-Chemiker, Pharmaceuten u. Landwirte. Mit einem Vorwort von E. Ch. Hansen. 1. Bd.: Schizo-

- myceten-Gärungen. Mit 1 Lichtdr.-Taf. u. 90 Abbildgn. im Text. gr. 8°. XII, 363 p. Jena (Fischer) 1896. 9 M.
- Lyons, E. E., Ueber den Einfluß eines wechselnden Traubenzuckergehaltes im Nährmaterial auf die Zusammensetzung der Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVIII. 1896. Heft 1. p. 30—42.)
- Marmier, L. A., Les toxines et l'électricité. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1896. No. 8. p. 469—480.)
- Marschall, Ueber die Zusammensetzung des Schimmelpilz-Myceles. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVIII. 1897. Heft 1. p. 16—29.)
- McAlpine, D., Notes on uromyces Amygdali Cook: a synonyme of Puccinia Pruni Pers. Communicat. by J. H. Maiden. (Proceed. of the Linnean soc. of New South Wales. 1895.) 8°. 20 p.
- Mex, C., Der heutige Stand der bakteriologischen Systematik. (Botan. Centralbl. 1896. No. 46. p. 203—211.)
- Neger, F. W., Urédinées i ustilaginéas nuevas Chilenas. (Anal. de la universidad, Santiago de Chile. T. XCIII. 1896. p. 771—790.)
- Pfeffer, W., Ueber die lockere Bindung von Sauerstoff in gewissen Bakterien. (Ber. d. mathem.-physikal. Klasse d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wissensch. 1896. 27. Juli.)
- Starbäck, K., Sphaerulina halophila (Bomm., Rouss. et Sacc.) en parasitisk pyrenomycet. (Bihang till K. Svenska vet. akad. handl. Bd. XXI. 1896. afd. III. No. 9.) 8°. 19 p. Stockholm 1896.
- Tassi, F., Novae micromycetum species descriptae et iconibus illustratae. (Rev. mycolog. 1896. p. 157—174.)
- Thiry, G., Sur une bactérie produisant plusieurs couleurs (bacille polychrome). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 28. p. 885—886.)
- Underwood, L. M., Coleosporium Campanulae (Pers.) Winter. (Bullet. of the Torrey botan. club. Vol. XXIII. 1896. p. 423.)
- Verfahren zur Vergärung von Melasse unter Benutzung von Torf von Edmond de Cuyper in Mons (Belgien). (Dtsche Zuckerindustrie. 1896. No. 42. p. 2056—2057.)
- Woronin, M. u. Nawaschin, S., Sclerotinia heteroica. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. Heft 3, 4. p. 129—140, 199—207.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft und Wasser.

- Mutschler, L., Das Aarewasser bei Bern. Ein Beitrag zur Kenntnis der Selbstreinigung der Flüsse. (Forschungsber. über Lebensmittel u. ihre Bezieh. zur Hygiene etc. 1896. Heft 13. p. 399—429.)

## Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Gottstein, A., Zur Konservierung von Nahrungsmitteln durch Formaldehyd. (Dtsche med. Wchschr. 1896. No. 49. p. 797.)
- Kalender für die landwirtschaftlichen Gewerbe. Brennerei, Preßhefe-, Essig- und Stärkefabrikation. XV. Jahrg. 1897. Hrsg. v. d. Verein der Spiritusfabrikanten in Deutschland. 2 Teile. Gr. 16°. XVI p., Schreibkalender, 103 u. 291 p. m. 1 Karte. Ausg. m. 1/2, Seite weiß Papier pro Tag, geb. in Leinw. u. geh. 3 M.; Ausg. m. 1 Seite weiß Papier pro Tag, geb. in Leder 4 M. Berlin (Parey) 1897.

### Fleisch.

- Morot, Ch., Nécessité de la dénaturation complète des viandes saisies comme impropres à la consommation. (Journ. d'hygiène. 1896. No. 1064. p. 585—587.)
- Nowag, Seltene Finnenfunde. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1896/97. Heft 1. p. 10.)
- Remlinger, F., Les accidents causés par les viandes conservées en boîtes; leur pathogénie, leur prophylaxie. (Annal. d'hygiène publ. 1896. No. 11. p. 408—420.)
- Rempel, O., Ueber die Verwendung tuberkulösen Fleisches zu Genußzwecken. [Inaug.-Diss.] 8°. 32 p. Berlin 1896.
- Preußen. Reg.-Bez. Posen. Polizei-Verordnung, betr. die Untersuchung des Schweinefleisches. Vom 19. Februar 1896. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1896. No. 42. p. 302—303.)

## Milch, Molkerei.

- Klein, J.**, Ueber die konservierende Wirkung verschiedener Chemikalien auf Milch, welche für den Zweck der Untersuchung längere Zeit aufbewahrt werden soll. (Milch-Ztg. 1896. No. 47. p. 745—748.)
- de Mételnikoff et Houdet, V.**, Rapport sur la fabrication des fromages à pâte molle (Camembert et Brie). (Bullet. du minist. de l'agricult. 1896. No. 4. p. 512—543.)
- Pasteurisirerapparat, der, und seine Bedeutung für den genossenschaftlichen Molkereibetrieb. (Landwirt. 1896. No. 59. p. 349.)
- Stewart, Ch. H.**, The sterilisation of milk. (Brit. med. Journ. 1896. No. 1863. p. 626—628.)

## Bier, Brauerei.

- Windisch, W.**, Ueber eine bisher wenig beobachtete Ursache des sog. „Kellergeschmackes“ des Bieres. (Wechschr. f. Brauerei. 1896. No. 45. p. 1177.)

## Straßen.

- Zacher, G.**, Holzpflaster und Mikroben. (Gesundheit. 1896. No. 22. p. 337—338.)

## Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Trillat, A.**, La formaldéhyde et ses applications pour la désinfection des locaux contaminés. 8°. Paris (Carré et Naud) 1896. 3 fr.

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Altum**, Drei Eichenblattzerstörer, Phycis (*Myelois*) *tumidella* Zck., *Tinea inquilinella* m. und *Orchestes quercus*. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1896. Heft 10. p. 575—581.)
- Arthur, J. C. and Bolley, H. L.**, Bacteriosis of carnations. (Purdue university. Agric. exper. stat. bullet. No. 59. 1896.) 8°. 22 p. Lafayette, Ind., 1896.
- B.**, Der Kampf gegen die Reblaus in den Weinbaugebieten Oesterreichs. (Allg. Wein-Ztg. 1896. No. 48. p. 471—472.)
- Baaskow, C.**, Etwas über den Kornkäfer. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1896. No. 48. p. 386.)
- Baumschädlinge**, einige der gefährlichsten, und deren Bekämpfung. (Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Vereine d. Großh. Hessen. 1896. No. 47. p. 401—403.)
- Beijerinck, M. W.**, Ueber Gallbildung und Generationswechsel bei *Cynips calicis* und über die Circulansgalle. (Aus: „Verhandelingen der Kgl. Akad. van Wetensch. te Amsterd.“) Lex.-8°. 45 p. m. 3. Taf. Amsterdam (Johannes Müller) 1896. 1,90 M.
- Berlese, A.**, Notizie intorno all' effetto delle miscele insettifughe contro la diffusione della *Cochylis ambiguella*. (R. scuola super. d'agricolt. in Portici. Bollett. No. 26. 1896.) 8°. 14 p. Portici 1896.
- Bolley, H. L.**, Stinking smut in wheat. 4°. 1 p. Fargo 1896.
- van Breda de Haan, J.**, Een ziekte in de Deli-tabak veroorzaakt door het tabaks-aaltje. Voorloop. mededeelingen. 8°. 87 p. Batavia (Kolf) 1896.
- —, De bibitziekte in the Deli-tabak veroorzaakt door *Phytophthora Nicotianae*. Mededeel. uit 'Slands Plantentuin. 8°. XV, 107 p. Batavia-'Sgravenhage (Kolf) 1896.
- Crié, L.**, Sur le dépérissement des pommiers. (Bullet. du minist. de l'agricult. 1896. No. 4. p. 610—635.)
- Debray, F.**, Bactériens de la canne à sucre. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 28. p. 889—890.)
- Eriksson, J.**, Welche Rostarten zerstören die australischen Weizenernten? (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. Heft 3. p. 141—144.)
- —, Welche Grasarten können die Berberitze mit Rost anstecken? (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. Heft 4. p. 193—197.)

- Eriksson, J.**, Neue Untersuchungen über die Spezialisierung, Verbreitung und Herkunft des Schwarzerostes (*Puccinia graminis Pers.*). (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXIX. 1896. Heft 4. p. 499—524.)
- Eriksson, J. u. Henning, E.**, Die Getreideroste, ihre Geschichte und Natur, sowie Maßregeln gegen dieselben. (Meddeland. fran Kgl. landbrucks-Akad. experimentalfält. No. 38.) 8°. 463 p. m. 13 Taf. u. 1 Karte. Stockholm (Norstedt) 1896.
- Evans, W. H.**, Copper sulphate and germination. Treatment of seed with copper sulphate to prevent the attacks of fungi. (U. S. Departm. of agricult., division of veget. physiol. and pathol. Bull. No. 10.) gr. 8°. 24 p. Washington 1896.
- Frank, Maßregeln gegen den Schildkäfer der Rüben.** (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1896. No. 21. p. 321—323.)
- , Der Charakter des Jahres 1896 betreffs der Phoma Betae-Krankheit der Zuckerrüben. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1896. Heft 22. p. 341—345.)
- Frank, A. B. u. Sorauer, F.**, Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1895. (Arb. d. dtch. Landwirtsch.-Gesellsch. 1896. Heft 19.) 8°. X, 133 p. Berlin 1896.
- Galloway, B. T.**, The pathology of plants. Lines of investigation. (Sep. reprint. fr. experim. stat. record. Vol. VII. 1896. No. 9.) 8°. 10 p. Washington 1896.
- Hollrung, M.**, 7. Jahresbericht über die Thätigkeit der Versuchstation für Nematodenverteilung und Pflanzenschutz zu Halle a. S. 1895. 8°. 61 p. 1896.
- Hotter, E.**, Die Erfolge der im Jahre 1895 durchgeführten praktischen Versuche zur Bekämpfung der Schorfkrankheit (*Fusicladium*). (Obstgarten. 1896. No. 12. p. 182—184.)
- Howard, L. O.**, The grass and grain joint-worm flies and their allies. (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. Techn. ser. No. 2.) 8°. 24 p. Washington 1896.
- Koningsberger, H. C.**, Dierlijke vijanden der koffie-cultuur. (Sep. Teysmannia. Dl. VII. afd. 5.) 8°. 15 p. Batavia 1896.
- , De rupsenplaag in Kediri, veroorzaakt door den oelar djaran. (Teysmannia. Deel VII. afd. 4.) 8°. 5 p. Batavia 1896.
- Kraslshshik, J.**, La lutte contre les insectes nuisibles à l'aide de leurs parasites. 8°. 13 p. Montpellier (Extr. d. Progrès agricole et viticole) 1896.
- Krieger, W.**, Schädliche Pilze unserer Kulturgewächse. Fasc. I. gr. 4°. Königstein 1896.
- Kunckel d'Herculais, J.**, Ravages causés en Algérie par les chenilles de *Sesamia nonagrioides* Lefèvre au maïs, à la canne à sucre, aux sorghos etc. — Observations biologiques. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 20. p. 842—845.)
- Lavergne, G.**, Le black rot dans le Sud-Ouest en 1896. (Rev. de viticulture. 1896. No. 155. p. 556—561.)
- Marre, E.**, Le black rot dans l'Aveyron en 1896. (Rev. de viticulture. 1896. No. 155. p. 561—564.)
- Mohr, C.**, Mitteilungen über die Ursachen von Pflanzenschädigungen durch Insekticide. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. Heft 4. p. 208—209.)
- Odde, A.**, Traitement du black rot. (Rev. de viticulture. 1896. No. 155. p. 565.)
- Osten Sacken, C. E.**, Camarota as a noxious insect. (Entomol. monthly Magaz. 1896. Nov. p. 257.)
- Ráthay, E.**, Der Black-rot in Rußland. (Weinlaube. 1896. No. 47. p. 554.)
- Rostrup, E.**, Angreb af snyltesvampe paa skovtraeer i aarene 1893/95. (Særtr. af Tidskr. f. skovvaesen.) 8°. VIII, 18 p. 1896.
- , Vaertplantens indflydelse paa udviklingen af nye arter af parasitiske svampe. (Særtryk af oversigt over det Kgl. Danske videnskab. Selsk. forhandl.) 8°. 22 p. 1896.
- Rothert, W.**, Zur Kenntnis der in *Vaucheria*-Arten parasitierenden Rotatorie Notommata *Wernecki* Ehr. (Zool. Jahrb. Abt. f. System. etc. Bd. IX. 1896. Heft 6. p. 673—713.)
- , Ueber die Gallen der Rotatorie Notommata *Wernecki* auf *Vaucheria Walzi* n. sp. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXIX. 1896. Heft 4. p. 525—594.)
- v. Schlechtendahl, D.**, Die Gallbildungen (Zoocecidien) der deutschen Gefäßpflanzen. 2. Nachtrag. 8°. 64 p. Zwickau (Zückler) 1896.
- Schöyen, W. M.**, Beretning om skadeinsekter og plantesygdomme i 1895. 8°. 36 p. Kristiania (Grondahl) 1896.



- Smith, E. F., Legal enactments for the restriction of plant diseases. A compilation of the laws of the United States and Canada. (U. S. Departm. of agricult., division of veget. physiol. and pathol. Bull. No. 11.) gr. 8°. 45 p. Washington 1896.
- —, The bacterial diseases of plants. A critical review of the present state of our knowledge. (Amer. Naturalist. 1896. p. 796—804, 912—924.)
- Staas, G., De cryptogamische ziekten der gekweekte gewassen. 8°. 108 p. Gand (Vanderpoorten) 1896. 1,75 fr.
- Takahashi, G., Om ustilago virens Cooke and a new species of Tilletia parasitic on rice plant. (Sep. Bot. Mag. Vol. X.) 8°. 5 p. Tokyo 1896.
- Thomas, Fr., Ein neues Helminthoecidium der Blätter von Cirsium und Carduus. (Mitteil. d. Thüring. botan. Vereins. N. F. 1896. Heft 9.)
- Tognini, F., Sopra un micromicete nuovo probabile causa di malattia nel frumento. (Estr. d. Rendiconti d. R. ist. Lombard. di scienze e lett. Ser. II. Vol. XXIX.) 8°. 4 p. 1896.
- Traitement, le, du black rot en Amérique. (Rev. de viticulture. 1896. No. 155. p. 545—549.)
- Underwood, L. M. and Earle, F. S., Notes on the pine-inhabiting species of Peridermium. (Bulet. of the Torrey botan. club. Vol. XXIII. 1896. p. 400—405.)
- Vials, F., Sur la développement du black rot de la vigne (Guignardia Bidwellii). (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. 1896. No. 21. p. 905—907.)
- —, Le champ d'expérience du Mas de la Sorres. Insecticides et vignes américaines. (Estr. de la Rev. de viticult.) 8°. 15 p. 1896.
- Wagner, G., Ueber die Verbreitung der Pilze durch Schnecken. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. Heft 3. p. 144—150.)
- Went, F. A. G., Het zuur rot. (Mededeel. proefstat. v. suikerriet West Java. No. 23.) 8°. 12 p. Soerabaya 1896.

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Klein, E., On the disinfecting action of sodium hypochlorite. (Lancet. Vol. II. 1896. No. 22. p. 1509—1510.)

## Inhalt.

### Originalmittheilungen.

- Beijerinck, M. W., Emulsions- und Sedimentfiguren bei beweglichen Bakterien. (Orig.) [Schluß], p. 40.
- Brown, Adrian J., Fermentative power. An answer to criticism by M. E. Duclaux. (Orig.), p. 33.
- Frank, Ueber die Ursachen der Kartoffelfäule. (Orig.) [Schluß], p. 57.
- v. Freudenreich, Ed., Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir. (Orig.), p. 47.
- Peglion, Vittorio, Bacteriosi del gelso. (Orig.) [Fine.], p. 60.
- Stutzer, A. u. Hartleb, R., Der Salpeterpilz. (Orig.) [Schluß], p. 54.

### Zusammenfassende Uebersichten.

- Benecke, Franz, Ueber das Chinosol. (Orig.), p. 65.

### Referate.

- Lagervall, Algot, Redogörelse för några undersökningar rörande bakterierna i vatten, luft och jord, p. 74.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Karawalew, Ein neuer Thermostat ohne Gasbenutzung, p. 75.

### Neue Litteratur, p. 76.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie und  
Pflanzenpathologie.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Wilsarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 10. März 1897.**

**No. 4/5.**

---

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

---

*Die Redaktion des „Centralblattes für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## **Original-Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Das Vorkommen von *Bacillus pseudanthracis* im Fleischfuttermehl.**

Von

**R. Hartleb und A. Stutzer<sup>1)</sup>.**

Unter der Bezeichnung „Fleischfuttermehl“ versteht man Rückstände, welche bei der Fabrikation von Fleischextrakt erhalten werden, nachdem solche getrocknet und gemahlen sind.

---

1) Mittheilungen der landwirtschaftl. Versuchsstation Bonn.

Das Fleischfuttermehl findet in Europa zur Fütterung der Kühe, Schweine und anderer Tiere Verwendung.

Bei einigen Milzbranderkrankungen von Kühen, welche vor einigen Jahren in der Rheinprovinz beobachtet wurden, war man geneigt, die Ursache der Infektion auf die Fütterung von Fleischmehl zurückzuführen und hat schon R. Burri (Hygienische Rundschau. 1894. No. 7. p. 339—347) mitgeteilt, daß er im Fleischfuttermehle einen *Bacillus* fand, der viele Ähnlichkeit mit dem wirklichen Milzbrandbacillus zeigt, aber nach den damaligen, in unserem Laboratorium vorgenommenen Untersuchungen keine pathogene Eigenschaften besaß. Auch später wurde das Vorkommen dieses als *B. pseudanthracis* bezeichneten Bacillus in dem Fleischfuttermehl wiederholt von uns beobachtet, was die Veranlassung gab, in landwirtschaftlichen Blättern auf diese Thatsache aufmerksam zu machen, sowie Käufer und Verkäufer der Fleischfuttermehle aufzufordern, Proben behufs eingehender Versuche an hiesige Versuchsstation einzusenden. Bei dem allgemeinen Interesse, welches der Landwirt der Milzbrandkrankheit entgegenbringt, war es erklärlich, daß der Aufforderung bereitwilligst Folge geleistet und zahlreiche Proben eingesandt wurden.

Bei der Bearbeitung des Themas über die Abstammung und die Eigenschaften des *B. pseudanthracis* drängten sich uns zunächst zwei Fragen auf, worüber wir uns Aufklärung verschaffen wollten. Erstens: Ist der *B. pseudanthracis* ein ständiger Begleiter der Fleischfuttermehle? und für den Fall, daß wir diese Frage verneinen mußten, kam zweitens in Betracht: Läßt sich der bisher als nicht pathogen angesehene *B. pseudanthracis* virulent machen und auf welche Weise?

Die erste Frage ist für unsere Arbeit insofern von Wichtigkeit, weil alle weiteren Versuche ohne Interesse gewesen wären, falls wir feststellen konnten, daß sich in allen (südamerikanischen) Fleischfuttermehlen der *B. pseudanthracis* vorfand, wir mußten dann mit Recht annehmen, daß wir es mit einem verunreinigenden Mikroorganismus zu thun hatten, dem wir, außer seiner zufälligen Ähnlichkeit mit dem wirklichen *B. anthracis*, weiter keine Bedeutung zuzumessen brauchten.

Sollte sich aber herausstellen, daß der *B. pseudanthracis* nur in einigen Fleischmehlen sich findet, dann würde die Möglichkeit nicht ausgeschlossen sein, daß wir es mit einem in seiner pathogenen Wirkung vielleicht abgeschwächten Bacillus zu thun haben. Zur Beantwortung der ersten Frage übertrugen wir eine Platinöse voll von Fleischfuttermehl in Peptonagar, machten hiervon drei Verdünnungen, gossen dieselben in Petrischalen und setzten diese in einen auf Bluttemperatur erwärmten Thermostaten.

Im ganzen wurden 12 aus verschiedenen Teilen Westdeutschlands zu verschiedenen Zeiten erhaltene Proben zur Untersuchung herangezogen. Als wir nach einigen Tagen die Platten der 12 Futtermehle einer genaueren Durchsicht unterzogen, fanden wir, daß nicht auf allen, sondern nur auf 7 Platten die Kolonien von *B. pseudanthracis* vorhanden waren. Das Aussehen der Kolonien einer Platte glich völlig dem des wirklichen *B. anthracis*. Auf Agar

bildeten diese Kolonien einen grauweißen, trockenen Belag mit Fäden, die nach allen Richtungen hin wollartig und schlängelnd sich verbreiteten und häufig zopfartig sich zusammenlagerten.

Im gefärbten Präparate erschienen die Bakterien einzeln und in Ketten mit endogenen, in der Mitte der Zelle liegenden eiförmigen Sporen.

Nach diesen Befunden tritt der *B. pseudanthracis* als ständiger Begleiter der Fleischfuttermehle nicht auf.

Da es, wie schon erwähnt, vorkam, daß Tiere nach dem Verfüttern von Fleischfuttermehl erkrankten und man die Ursache der Erkrankungen auf den Genuß des Fleischfuttermehles zurückführen zu müssen glaubte, ist anzunehmen, daß, falls die Erkrankung hierdurch thatsächlich hervorgerufen wurde, der *B. pseudanthracis* im lebenden Organismus virulent geworden und in einer abgeschwächten Form im Fleischfuttermehl vielleicht enthalten ist. Sollte es vorgekommen sein, daß Milzbrandkrankungen in einem ursächlichen Zusammenhange mit dem *B. pseudanthracis* des Fleischfuttermehles stehen, was wir keineswegs behaupten wollen, so dürfen wir nicht annehmen, daß man das Fleisch von kranken Tieren zur Herstellung des Fleischextraktes benutzte, dagegen erscheint die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß kranke, aber nicht verendete Tiere zur Gewinnung von Fett, Haut, Knochen benutzt und deren Fleisch, nach vorherigem Sterilisieren und Trocknen, anderem Futtermehl vielleicht beigemengt wurde. Durch die Anwendung von Hitze sind die widerstandsfähigen Sporen des *B. pseudanthracis* nicht getötet, können aber ihre Virulenz verloren haben, falls sie solche vorher überhaupt besaßen.

Bei *B. anthracis* ist eine Abschwächung der Virulenz durch Hitze, aber auch durch andere Einflüsse bekanntlich leicht zu erzielen.

Nach Beobachtungen von Abel (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 175) setzt ein Gehalt von 5 Proz. Kochsalz schon nach 3 Wochen die Virulenz des *B. anthracis* soweit herab, daß derselbe nicht mehr die Krankheit zu übertragen vermag. Ein Gehalt von 7 bis 10 Proz. Chlornatrium bewirkt dasselbe schon nach 14 Tagen; die Milzbrandsporen aber behalten ihre Lebensfähigkeit noch 5 Monate. Weitere Angaben nach der Richtung hin macht S. Sirena (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 319), welcher fand, daß Milzbrandbakterien im sterilisierten Wasser nur von geringer Lebensdauer sind.

An der Hand der Chauveau'schen Versuche (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. V. p. 808) liegt die Möglichkeit nahe, dem *B. anthracis*, welcher nicht mehr virulent ist, unter gewissen Bedingungen seine pathogenen Eigenschaften wiederzugeben, wenn derselbe noch imstande ist, geringe Infektion bei solchen Tieren hervorzurufen, die besonders empfindlich gegen ihn sind. Es ist dann eine wiederholte Ueberimpfung von Tier zu Tier erforderlich. Die Virulenz wächst stufenweise, so daß die Kulturen schließlich auch weniger empfindliche Tiere zu töten imstande sind.

Der *B. pseudanthracis* besitzt, wenn überhaupt, dann jedenfalls nur eine ganz geringe Energie zur Erzeugung eines Giftes.

Die Hervorrufung der Virulenz bei Mikroben, welche sozusagen unfähig geworden sind, ihre toxische Wirkung zu äußern, erfordert andere Maßnahmen, als eine stufenweise Ueberimpfung von Tier zu Tier. Nach A. Chauveau müssen drei Bedingungen beachtet werden, um die Virulenz wieder hervorzurufen:

- 1) Die möglichste Verringerung der Sauerstoffzufuhr, mithin eine obligat-anaërobe Züchtung, weil bekanntermaßen der Sauerstoff die Virulenz schwächt, ja selbst aufhebt.
- 2) Züchtung in einem nährstoffarmen Substrat, also in sehr verdünnter Fleischbrühe.
- 3) Ein Zusatz von kleinen Mengen frischen Blutes zu dem an Nährstoff armen Substrate.

Zur anaëroben Züchtung der isolierten Bakterien des *B. pseudanthracis* schien uns folgender einfacher Apparat am zweckentsprechendsten zu sein:

Zwei Reagenscylinder, von denen der eine den doppelten Rauminhalt als der andere besitzt, werden mit durchlochtem Gummistopfen verschlossen und beide Cylinder durch ein halbrund gebogenes Glasrohr so verbunden, daß die Enden der Glasröhre durch die Bohrung des Stopfens in die Reagenscylinder eben hineinreichen. Beim Gebrauch giebt man in den engeren Cylinder Nährbouillon, schließt das Gefäß mit einem Wattestopfen, sterilisiert in ordnungsgemäßer Weise, impft dann die Flüssigkeit mit einer Platinöse voll von einer Kolonie des *B. pseudanthracis* und schiebt den vorher angebrannten Wattestopfen tief in das Reagensglas hinein. Nun kann man mit dem Gummistopfen, in welchem das gebogene Glasrohr befestigt ist, diesen Reagenscylinder schließen und später wird mittels des zweiten Gummistopfens, am anderen Ende des Glasröhrchens, der zweite Reagenscylinder hiermit verbunden. Letzterer enthielt 1 g Pyrogallussäure und 10 ccm verdünnte Kalilauge (1:10).

Als nährstoffarmes Substrat benutzten wir verdünnte Fleischwasserbouillon (1:10) mit einem Zusatz von 0,5 Proz. Chlornatrium, 0,25 Proz. Soda, welcher Flüssigkeit wir vor jedem neu anzusetzenden Versuche eine Oese voll frischen Mäusehlutes zusetzen.

Zur Erzielung von Reinkulturen haben wir vorher von geeigneten Agarplatten, die mit kleinen Mengen der verschiedenen Futtermehle geimpft waren, die charakteristischen Kolonien in neuen Agarnährboden übertragen, hiervon Verdünnungen angelegt, Platten gegossen und diese bei Bluttemperatur aufbewahrt. Von den nach 24 Stunden gewachsenen Kolonien wurden Agarstriche gemacht, um für alle Fälle Reinkulturen zur Hand zu haben. Zugleich ist auch Nährbouillon mit den reinen Kolonien geimpft, sowie anaërobe Kulturen in vorstehend angegebener Weise angelegt.

Wir beobachteten zunächst das Wachstum in Nährbouillon und war der Befund der Bouillonkultur wie folgt:

- 1) Futtermehl H., Bouillon sehr getrübt und Bildung von Bodensatz;
- 2) Futtermehl K., Bouillon wenig getrübt, Bodensatz;
- 3) Futtermehl L., Bouillon fast klar, reichlicher Bodensatz;
- 4) Futtermehl N., Bouillon klar, kein Bodensatz;

- 5) Futtermehl M., Bouillon fast klar, kein Bodensatz;
- 6) Futtermehl R., Bouillon stark getrübt, wenig Bodensatz;
- 7) Futtermehl S., Bouillon wenig getrübt, wenig Bodensatz.

Dieses Verhalten in Bouillon ist für die einzelnen Bakterien charakteristisch und führten wir später den Nachweis, daß wir es bei diesen verschiedenen Fleischfuttermehlen nicht mit einem einheitlichen *B. pseudanthracis* zu thun hatten, sondern mit mehreren, einander sehr ähnlichen Arten.

Wir glaubten, vorläufig alle die gefundenen Arten von *B. pseudanthracis* gleichartig behandeln zu müssen, zumal das Verhalten in den anderen Nährmedien, besonders das Wachstum auf Agar, ein gleiches war und auch die mikroskopischen Bilder der mit Methylviolett gefärbten Trockenpräparate sich glichen.

Bei den anaëroben Kulturen fanden wir bei Blutwärme nach Verlauf von 48 Stunden das Wachstum analog demjenigen der anaëroben Bouillonkulturen. Auch hier war bei R. und H. stets eine Trübung der Bouillon eingetreten, während L., M., S. anfangs wenig getrübt und nach 12—20 Stunden wieder klar waren. K. war ganz wenig getrübt, N. zeigte weder eine Trübung, noch einen Bodensatz und schien diese Flüssigkeit steril zu sein. In den anaëroben Kulturen war das Wachstum der Bakterien bezüglich der Größenverhältnisse und der Anordnung der Bakterien von denjenigen der anaëroben Kulturen verschieden. Bei K., L. und namentlich bei M., weniger bei S., beobachteten wir eine ausgesprochene Flocken- und Fadenbildung in der Bouillon, in ähnlicher Weise wie bei den wirklichen *B. anthracis*. Auch waren hier die einzelnen Bakterien in ihrer Form dem *B. anthracis* außerordentlich ähnlich. Das Wachstum und die Form der Bakterien in den anderen Kulturen (R., N., H.) hatte bei der anaëroben Züchtung eine Veränderung erfahren, wodurch sie zwar immer noch dem ursprünglichen *B. pseudanthracis* sehr ähnlich blieben, aber sich mehr von dem Gesamtcharakter des *B. anthracis* entfernt hatten. Im allgemeinen waren diese Bakterien dünner geworden, die Enden nicht mehr so scharf abgeschnitten und neigten sie nur wenig zur Fadenbildung. Da diese Involutionsformen aber auch beim *B. anthracis* bisweilen beobachtet werden, so sahen wir von einer Differenzierung in der Behandlung der einzelnen Bakterien vorläufig ab und führten die anaërobe Züchtung gleichmäßig fort.

Die Bouillon war nach Verlauf von 24 Stunden in allen Kulturen klar und die Bakterien hatten sich am Boden der Glasröhrchen abgesetzt. Nach 6-tägiger anaërober Züchtung bei 37° wurden Uebertragungen in neue verdünnte Nährbouillon gemacht, unter Zugabe eines Tropfens frischen Blutes. Mit den abermals 6 Tage lang fortgeführten Kulturen sind am 6. Juli die ersten Uebertragungen auf weiße Mäuse gemacht, und zwar wurde vom Bodensatz der einzelnen Kulturen eine Platinöse voll unter die Haut in der Nähe der Schwanzwurzel gebracht. Keine der geimpften Mäuse zeigten irgendwelche Reaktion und blieben andauernd gesund.

Bevor wir die weiteren Ergebnisse der folgenden Impfversuche mit den verschiedenen anaëroben Kulturen beschreiben, wollen wir

noch auf ein eigentümliches Verhalten der einzelnen Bakterienarten gegen das eingetragene Blut erwähnen. Die anaëroben Kulturen sind bis zum 15. Juli noch zweimal erneuert, und war bei einer gleichmäßigen Erwärmung auf 37° die rote Farbe des Blutes nach ungefähr 48 Stunden in allen Kulturen fast gleichmäßig verschwunden. Sie hatte einer lehmartigen braunen oder einer grauweißen Färbung Platz gemacht. Nach der dritten Uebertragung wurde die Farbe des Blutes nicht mehr in dem Maße verändert.

Bei M., L. und S., die nie eine starke Trübung der Bouillon hervorriefen, blieb die rote Färbung der Bouillon tagelang bestehen, so daß selbst der Bodensatz rot gefärbt erschien, während in den übrigen Kulturen die Zersetzung des Blutes regelmäßig vor sich ging.

Vermutlich ist dieser Unterschied durch die Beweglichkeit, bezw. Unbeweglichkeit der betreffenden Bakterien bedingt, bezw. durch Sauerstoffabgabe aus dem Blute.

Während die Bakterien von L., S. und M. auf festem Nährboden völlig bewegungslos waren, also auch hierin dem *B. anthracis* glichen, und nur in Bouillon schwache Bewegung zeigten, hatten die Bakterien R. und H. eine lebhafte Eigenbewegung. Vorzüglich R. hatte eine sehr lebhafte Bewegung, man sah die Bakterien einzeln und zu zweien in wälzender, aalähnlicher, schlängelnder Bewegung durch den hängenden Tropfen eilen, während die wenigen sporenbildenden Bakterien nur geringe schwankende oder wälzende Bewegungen machten. Nach einer weiteren Periode der anaëroben Züchtung wurden am 15. August Ueberimpfungen auf weiße Mäuse gemacht, und zwar ist wieder nur eine Platinöse voll vom Bodensatz den Mäusen unter die Haut gebracht. Nach 24 Stunden war keine Störung im Wohlbefinden der Tiere zu bemerken, wohl aber nach 48 Stunden. Die Tiere zeigten jetzt wenig Freßlust, die Haare waren gestäubt und sie verhielten sich andauernd ruhig.

Diese Krankheitserscheinungen verschwanden indes wieder, und nach weiteren 48 Stunden machten sämtliche Mäuse einen gesunden Eindruck.

Wir hielten nun eine Steigerung der Virulenz der Bakterien für nötig und machten Uebertragungen aller früheren anaëroben Kulturen in Nährbouillon mit Zusatz von Blut in der Weise, daß wir die Flüssigkeit, welche über den am Boden abgesetzten Bakterien sich befand, mit einer sterilen Pipette abhoben und den Bodensatz mit neuer, steriler Nährbouillon übergossen.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

# Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir.

Von

Dr. Ed. von Freudenreich,

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der Molkereischule Rütli bei Bern.

Mit 2 Figuren.

(Fortsetzung.)

Um den Leser nicht zu ermüden, werde ich die unzähligen Analysen verschiedener Kefirsorten, die ich ausführte, nicht detailliert vorführen, sondern die Resultate nur kurz zusammenstellen.

In den mikroskopischen Präparaten, die aus dem fertigen Kefir angefertigt wurden, indem ein Tröpfchen Kefir auf einem Deckgläschen ausgebreitet, das Präparat durch die Flamme gezogen, in Chloroform entfettet und einige Tropfen konzentrierter alkoholischer Methylenblaulösung aufgegossen wurde, sah ich gewöhnlich — wenn der Kefir rein war — vier verschiedene Mikroorganismen, Hefezellen, große, in Kettenform geordnete Kokken, kleinere Kokken und Bacillen. Auf den Gelatineplatten nun wuchsen mit Leichtigkeit die Hefe und der größere *Streptococcus* a und auch ganz kleine Kolonien des *Bacillus*, der, wie sich später herausstellte, auch zur Klasse der Streptokokken gehörende *Micrococcus* (*Streptococcus* b), aber nicht der *Bacillus*, und zwar weder auf gewöhnlicher, noch auf Milchsüßgärlatine. Nur einmal traf ich Kolonien des letzteren auf einer anaeroben Gelatineplatte. Auf Milchserumagaroberflächeplatten bei 35° gehalten, erhält man leicht den *Streptococcus* b neben dem *Streptococcus* a und auch ganz kleine Kolonien des *Bacillus*, der, wie sich später herausstellte, mit dem *Bacillus caucasicus* identisch ist. Jedoch muß ich erwähnen, daß dieses keineswegs immer gelingt; zuweilen fehlten seine Kolonien ganz, ohne daß ich einen Grund dafür angeben könnte.

Gleichzeitig bediente ich mich eines anderen Verfahrens, um diese vier Mikroorganismen zu züchten; ich impfte einfach eine Platinöse Kefir auf eine schräge Milchserumagarfläche und sah nach wenigen Tagen, bei 22°, einen Rasen entstehen, der aus den vier erwähnten Mikroorganismen bestand, Kulturen, die man am besten als Mischkulturen bezeichnen kann.

Zur leichteren Isolierung des *Bac. caucasicus* kann man auch zunächst Stichkulturen in hohe Agarschicht vornehmen. Im Stiche wachsen dann, bei 35°, meist nur der *Bacillus* mit dem *Streptococcus* b. Aus solchen Kulturen erhält man dann mittels Agaroberflächeplatten den *Bacillus* leichter, als wenn die Hefe, welcher die Temperatur von 35° wenig zusagt, noch dabei ist.

Bevor ich nun die Versuche anführe, welche ich anstellte, um mittels dieser Mikroorganismen Kefir zu bereiten, werde ich dieselben, so weit nötig zu ihrer Charakterisierung, kurz beschreiben.



### 1. Die Kefirhefe (Sacch. Kefir).

Auf den gewöhnlichen Gelatineplatten bildet diese Hefeart sehr kleine Kolonien, die, mit schwacher Vergrößerung betrachtet, blaß und grob gekörnt erscheinen.

Auf den Platten zweiter Verdünnung, auf welchen viele nahe an der Oberfläche gelegen sind, sind sie dunkler. In Stichkulturen wächst sie, aber weniger ergiebig in gewöhnlicher Gelatine als in Milchzuckergelatine. Im Stiche ist die Kultur perlschnurartig, auf der Oberfläche giebt sie einen wenig dichten weißlichen Rasen.

Auf den Milchserumgelatineplatten sind die Kolonien für das bloße Auge von gelber Farbe, rund und besser entwickelt als auf der gewöhnlichen Nährgelatine. Die näher an der Oberfläche liegenden Kolonien haben ein dunkleres Centrum. Die Körnung ist an den Rändern grob. Die kleineren und jüngeren Kolonien haben mit denen der weiter unten zu beschreibenden zwei Kokkenarten große Ähnlichkeit. Auf den weniger dicht besäeten Platten sind die oberflächlichen Kolonien schön ausgebildet und weißlich, in der Folge werden sie auch gelblich; die im Inneren gelegenen sind von gelblicher Farbe. Mit dem Mikroskope bemerkt man eine grobkörnige Struktur, jedoch ist letztere nur am Rande sichtbar und das Centrum der Kolonie erscheint dunkelbraun.

Die Stichkulturen sind schon nach 24 Stunden gut sichtbar.

Auf den Platten ist die Entwicklung auch eine ziemlich rasche, meist schon nach 2—3 Tagen sind die Kolonien sichtbar.

In gewöhnlicher Fleischbrühe zeigt sich bei 20° eine beginnende Trübung bereits nach 24 Stunden.

In Milchzuckerbouillon beginnt die Trübung ebenfalls nach 24 Stunden; das Wachstum ist jedoch nicht so ergiebig als in Bierwürze. In letzterem Nährmedium ist das Wachstum reichlich; Gasproduktion findet statt, aber sie ist schwächer als bei verschiedenen Bierhefen, wie wir sogleich sehen werden. Maltose wird demnach von dieser Hefe vergärt. In Traubenzuckerlösungen eingimpft, entwickelt die Kefirhefe auch Gärung unter Alkoholbildung.

In Milch bringt Sacch. Kefir keine Gärung hervor; sie entwickelt sich aber gut in derselben, unter Bildung eines eigentümlichen Geschmacks, der jedoch von dem der Bierhefe verschieden ist. Makroskopisch wird die Milch nicht verändert.

Auch auf Kartoffeln wächst diese Hefe unter Bildung eines gelblichen Rasens.

Am zuträglichsten ist ihr eine Temperatur von ca. 22°. Bei 28° wächst sie noch, bei 35° dagegen blieb in meinen Versuchen das Wachstum aus.

Was die Morphologie dieser Hefe anbelangt, so besteht sie aus meist ovalen Zellen von wechselnder Größe, im Mittel 3—5  $\mu$  lang und 2—3  $\mu$  breit. Einzelne Zellen sind rundlich, besonders in den Kartoffelkulturen. In Präparaten, in welchen die Zellen dichtgedrängt nebeneinander liegen, werden die Ränder eingedrückt und es entstehen winkelige Formen, was übrigens auch bei anderen Hefearten der Fall ist. Die Zellen färben sich leicht mit allen gebräuchlichen

Anilinfarben und auch nach Gram. In den gefärbten Zellen giebt es fast immer eine schlecht gefärbte Stelle, gewöhnlich in der Mitte, zuweilen an einem Ende. Diese ungefärbte Stelle stellt eine Vakuole dar, wie die ohne Anwendung von Färbemitteln hergestellten Präparate zeigen. Diese Vakuolen fehlen jedoch in einzelnen Zellen. Im Protoplasma sind ein oder mehrere glänzende Körner vorhanden.

Ist nun diese Hefeart, wie auch schon angenommen wurde, nichts anderes als eine gewöhnliche Bierhefe? Ein Vergleich mit *Sacch. Past. I, II und III*, sowie mit *Sacch. cerevisiae* und *Sacch. ellipsoideus* zeigt, daß dieses wohl nicht der Fall ist. Schon morphologisch unterscheidet sich *Sacch. Kefir* von den meisten dieser Arten. *Sacch. Past. I* besteht zwar auch hauptsächlich aus ovalen Zellen, aber daneben kommen sehr viele runde und längliche, wurstförmige Zellen vor; bei *Sacch. Past. II* begegnen wir hauptsächlich runden Zellen, neben ovalen und wurstförmigen; bei *Sacch. Past. III* trifft man neben ovalen und runden sehr viele wurstförmige Zellen an; *Sacch. cerevisiae* hat runde Zellen; *Sacch. ellipsoideus* stünde morphologisch am nächsten, jedoch das Verhalten in Bierwürze zeigt durchgreifende Unterschiede. Impft man nämlich die erwähnten Hefearten in sterilisierte Bierwürze, so bemerkt man bei 20° schon nach 2 Tagen eine lebhaft Gärung in den mit *Sacch. Past. I, II und III* geimpften Gläsern; in den mit *Sacch. ellipsoideus* und *cerevisiae* geimpften Gläsern ist in diesem Zeitpunkte die Gasbildung nur, wenn man das Glas schüttelt, bemerkbar; nach einigen weiteren Tagen aber ist auch bei diesen zwei letztgenannten Hefen die Flüssigkeit mit Schaum bedeckt. Die Kefirhefe dagegen bringt zwar auch eine Gärung hervor, aber eine viel schwächere; nur beim Schütteln des Glases sieht man Gasblasen aufsteigen, aber nie bedeckt sich in der Folge die Flüssigkeit mit Schaum. Ferner bewirken *Sacch. Past. II und III, Sacch. ellips. und S. cerevisiae* auch bei 35° lebhaft Gärung, während die Kefirhefe, wie auch *S. Past. I* bei dieser Temperatur sich in meinen Versuchen nicht entwickelten. Auch tritt bei *Sacch. Kefir* nie Hautbildung ein, was bei den fünf genannten anderen Hefearten stets der Fall ist. Auch Askosporenbildung konnte ich bei der Kefirhefe nicht beobachten. Wenn daher auch alle diese Hefen eine gewisse Verwandtschaft dadurch bekunden, daß sie Maltose vergären, so haben wir in der Energie dieser Gärung, im Verhalten gegen die Temperatur und in ihrer Morphologie Unterscheidungsmerkmale genug, um aus der Kefirhefe eine besondere Art machen zu dürfen.

Gegenüber äußeren Einflüssen ist die Kefirhefe nicht sehr resistent.

Was die Wärme anbelangt, so wurde sie in einem ersten Versuche 5 Minuten lang Temperaturen von 50°, 55° u. s. w. bis 85° ausgesetzt, indem man dünne sterilisierte Glasröhren mit einer kräftig entwickelten Kultur in Bierwürze füllte und, nachdem beide Ende zugeschmolzen worden, in ein Wasserbad stellte, worauf der Inhalt der Röhre nach Beendigung des Versuches in ein Fläschchen sterilisierter Bierwürze eingeimpft wurde. Schon die Temperatur von 50° wirkte in diesem Versuche sterilisierend. In einem zweiten Versuche wurde mit einer Temperatur von 45° der Anfang gemacht. Hier

zeigte sich die Kefirhefe nach 5 Minuten langer Einwirkung der Temperaturen von  $45^{\circ}$  und  $50^{\circ}$  noch lebensfähig. Bei  $55^{\circ}$  dagegen starb sie regelmäßig ab. Die Grenze liegt somit nicht weit von  $50^{\circ}$ .

Auch bloße Eintrocknung verträgt diese Hefeart schlecht. Sterilisierte Fließpapierstreifen, in flüssige Kulturen eingetaucht und nachher eingetrocknet, waren nach 2 und 3 Tagen noch imstande, bei Einsaat in Bierwürze reichliche Kulturen zu geben, nicht mehr aber nach 4 und mehr Tagen. Damit im Widerspruch scheint die Tatsache zu stehen, daß in den eingetrockneten Kefirkörnern die Hefe lange lebensfähig bleibt; wahrscheinlich ist aber in der Mitte der Körner die Eintrocknung nicht so vollkommen, wie auf Fließpapierstreifen.

Sublimat und Karbolsäure töten sie leicht ab. Eine Kultur wurde mit der gleichen Menge 2‰ Sublimatlösung vermischt und nach 30 Sekunden, 1, 2 . . 10 Minuten, eine Platinöse des somit 1‰ Sublimat enthaltenden Gemisches in frische Nährlösung übertragen. Die geringe Menge des eingepfachten Antiseptikums ist dem Wachstume der Hefe, wie ich mich durch Kontrollversuche überzeugte, nicht hinderlich. Nach 30 Sekunden trat Wachstum noch ein, nach 1 Minute auch, jedoch mit Verspätung, nach 2 und mehr Minuten dagegen war die Kultur abgetötet.

Bei Anwendung von Karbolsäure in  $2\frac{1}{2}$ -proz. Lösung (5-proz. Lösung mit Kultur zu gleichen Teilen vermischt) erfolgte die Abtötung bereits nach 30 Sekunden.

### Streptococcus a.

Auf den 2 Tage alten Milchzuckeragaroberflächeplatten, die mit Kolonien ziemlich dicht besät sind, haben letztere eine runde Form und erscheinen dem unbewaffneten Auge grau. Bei schwacher Vergrößerung betrachtet, sind sie weißlich an den Rändern und dunkelgelb im Centrum, und haben infolge der groben Körnung das Aussehen eines Haarknäuels. Auf den weniger dicht besäten Platten erscheinen sie, mit bloßem Auge betrachtet, grau, bei schwacher Vergrößerung gelb-bräunlich, mit weißlichem Rande. Sie sind dann den Kolonien des Streptococcus b sehr ähnlich, nur gewöhnlich etwas dunkler und weniger fein granuliert.

Auf gewöhnlicher Nährgelatine bleiben die Kolonien sehr klein und blaß, bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie hellgelb. Die Körnung ist grob und bereits nach 3 Tagen sichtbar. Bei den oberflächlich gelegenen Kolonien dagegen wird das Centrum dunkler und die Körnung bleibt nur an den Rändern sichtbar.

Auf Milchzuckergelatine ist das Wachstum ausgiebiger; die Kolonien sind, besonders im Innern der Gelatine, ziemlich groß, rund und, mit bloßem Auge betrachtet, weißlich. Die oberflächlich gelegenen, weißlich aussehenden Kolonien sind, bei schwacher Vergrößerung betrachtet, dunkler im Centrum, die grobe Körnung ist nur am Rande sichtbar. Die Kolonien und ihre Ränder sind überhaupt weniger hell als bei Streptococcus b. Im Stich ist die Kultur bereits nach 2 Tagen gut sichtbar, kaum aber in der gewöhnlichen Nährgelatine nach 3 Tagen. Zucker begünstigt überhaupt sehr das

Wachstum, welches auf zuckerfreien Medien stets sehr spärlich bleibt. Im Stiche ist die Kultur stets besser entwickelt als auf der Oberfläche.

In Milchzuckerbouillon (5 Proz. Milchzucker) ist nach 24 Stunden noch kein Wachstum sichtbar, weder bei 22° noch bei 35°. Nach 48 Stunden ist die Trübung ausgesprochen bei 22°, weniger bei 35°. Nach 3 Tagen ist auch bei letzterer Temperatur die Trübung sehr deutlich. Dabei tritt saure Reaktion ein. Am zuträglichsten ist also die Temperatur von 22°.

In gewöhnlicher Nährbouillon ist das Wachstum viel schwächer und bleibt sogar zuweilen aus.

In Milch tritt Koagulation nach 48 Stunden bei 35° ein; bei 22° ist dieses am 4. Tage der Fall. Hier wirkt also die Erhöhung der Temperatur, welche an und für sich diesem Mikroorganismus wenig zuträglich ist, als begünstigender Faktor der Koagulation.

Auf der Kartoffel erhält man kein Wachstum. An der Stelle, an welcher man mit der Platinöse ein Tröpfchen Kultur niedergelegt hat, findet man später zwar noch Kokken, aber sie färben sich bereits schlecht, scheinen also bereits in einem Degenerationsstadium sich zu befinden.

Alles dieses charakterisiert den *Streptococcus a* als einen Milchsäurebildner. Bei der Kefirbereitung fällt ihm die Aufgabe zu, die Milch zum Gerinnen zu bringen, was bei dem nachherigen Durchschütteln der Flaschen der Kefirmilch das bekannte eigentümlich feinflockige Aussehen giebt. Auch der säuerliche Geschmack des Kefirs ist zum großen Teil der von *Streptococcus a* gebildeten Milchsäure zuzuschreiben.

In den Präparaten, hergestellt aus 2 Tage alten Agarkolonien, sieht man ovale Kokken, die vielfach Ketten von 3—4 Individuen bilden, aber nicht lange Streptokokkenketten. In Milch beträgt der Längsdurchmesser ca.  $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$   $\mu$ , viele Exemplare sind aber bedeutend größer, so daß dieser Mikroorganismus den Eindruck eines ziemlich dicken *Micrococcus* giebt. In Milchzuckerbouillon entstehen lange Ketten von 10, 12 und mehr Kokken. In der Gelatine tritt er in Diplokokkenform, sowie in Form von Ketten von 4, 6 bis 8 Gliedern auf. In der Milch bildet er eigentümliche Ketten von dicken Kokken, die sich in den Präparaten aus der Kefirmilch wiederfinden; aber auch Diplokokken sieht man in der Milch. In älteren Kulturen zeigen die Kokken die Neigung, eine längliche Gestalt anzunehmen. Zwei zusammenhängende Kokken, die etwas überfärbt sind, geben dann oft das Bild eines Bacillus. Die Ketten werden auch seltener; diejenigen, die sich noch vorfinden, bestehen aus sehr dicken Kokken wie in der Milch; daneben isolierte Kokken und Diplokokken. Die Färbung gelingt leicht nach Gram und mit den gewöhnlichen Anilinfarben.

Die Versuche über die Widerstandsfähigkeit von *Streptococcus a* gegenüber der Wärme und den chemischen Mitteln wurden in gleicher Weise ausgeführt wie für die Hefe. Sie gaben folgende Resultate:

Temperaturen von 50° und 55° ertrug er 5 Minuten lang ohne

Schaden. Bei 60° und darüber, dagegen, wurde er nach dieser Zeit abgetötet. Eintrocknet war er nach 4 Tagen tot. Der Einwirkung des Sublimates in 1‰ Konzentration widersteht er 1 Minute, nicht aber 2 Minuten oder länger. Karbolsäure in 2½-proz. Konzentration tötete ihn bereits nach 30 Sekunden.

Um die Energie der Milchsäurebildung zu bemessen, habe ich, wie ich es früher für andere Milchsäurebakterien gethan habe, Kölbchen, 50 ccm 5-proz. Milchsäurepeptonlösung enthaltend, mit diesem Mikroorganismus geimpft und die Acidität alle Tage titriert (Phenolphthalein und ¼ Normalnatronlauge; dabei entspricht 1 ccm ¼ Normalnatronlauge 0,0225 Milchsäure). Folgende Tabelle zeigt das Resultat:

Nach 1 Tage	4,5 ccm	= 0,10125	Milchsäure
" 2 Tagen	6 "	= 0,1350	"
" 3 "	6,5 "	= 0,1460	"
" 4 "	8,5 "	= 0,1912	"
" 5 "	8,5 "	= 0,1912	"
" 6 "	8,5 "	= 0,1912	"
" 7 "	8,5 "	= 0,1912	"
" 8 "	8,5 "	= 0,1912	"

Da mit 50 ccm operiert wurde, mußten diese Zahlen mit 20 multipliziert werden, um auf einen Liter zurückgeführt zu werden.

Die Gasproduktion habe ich vermittelst des Schaffer'schen Gargasapparates gemessen (Landw. Jahrb. der Schweiz. Bd. VII. p. 72), indem täglich die gebildete Gasmenge am Eudiometerrohr abgelesen wurde. Bezüglich der Beschreibung des Apparates verweise ich auf die citierte Stelle. Die ersten Spuren Gas zeigten sich bei 22° am 2. Tage; am 5. Tage hatten sich 2 ccm Gas angesammelt, am 6. Tage 4 ccm, am 7. Tage 5,5 ccm, am 8. Tage 6 ccm, am 9. Tage 8 ccm, am 10. Tage 8,5 ccm, am 13. Tage 8¾ ccm, worauf eine weitere Gasproduktion nicht mehr statthatte. Dieser Milchsäurebildner ist, wie daraus zu schließen ist, ein Milchsäureferment, dessen Gasproduktion nichts Anormales bietet, wie dieses z. B. bei gewissen Blähungserregern des Käses, die bei geeigneter Temperatur in 24 Stunden bis zu 30 ccm Gas bilden können, der Fall ist.

### Streptococcus b.

Dieser zweite, in den von mir untersuchten Kefirsorten regelmäßig vorkommende Streptococcus zeichnet sich durch folgende Merkmale aus:

Auf dichtbesäten, zweitägigen Milchsäure-Agarplatten sieht man bei schwacher Vergrößerung sehr blasse, feingekörnte Flecke; meist sieht man 2—3 dunkelgelbe Punkte in jeder Kolonie. Die gut isolierten Kolonien sind rund, mit scharfen Rändern; auf dichtbesäten Platten geben indessen mehrere zusammenwachsende Keime Kolonien, deren Formen unregelmäßiger sind, oft oval. Mit bloßem Auge betrachtet, sind die Kolonien graulich.

Auf den weniger dicht besäten Platten sind die Kolonien auch graulich für das bloße Auge, dagegen braungelb, wenn man sie mit schwacher Vergrößerung betrachtet; der Rand jedoch bleibt weißlich.

Die Kolonien sind fein gekörnt und haben scharf gezeichnete Ränder.

Auf gewöhnlichen Gelatineplatten bleiben die Kolonien sehr klein, sie sind rund und hell, bei schwacher Vergrößerung hellgelb.

Auf Milchzuckergelatine ist das Wachstum besser, jedoch bleiben die Kolonien kleiner als diejenigen des *Streptococcus a*. Auf der Oberfläche sind sie dunkler, mit hellen Rändern; die Körnung ist überall sichtbar. Nach drei Tagen sind sie gut zu sehen.

Im Stiche ist nach dieser Zeit das Wachstum noch sehr schwach und bleibt es auch in der Folge in gewöhnlicher Nährgelatine; in Milchzuckergelatine ist das Wachstum ergiebiger; auf der Oberfläche des Stiches hat man in letzterer einen weißlichen runden Rasen.

Sehr groß werden die Kolonien beider genannten Streptokokken auf den Gelatineplatten nicht. Diejenigen von *Streptococcus a* sind zwar, wie bereits erwähnt, etwas größer, im Anfangsstadium sind sie indessen kaum voneinander zu unterscheiden. Bei den größeren Kolonien ist die Farbe bei *Streptococcus b* heller als bei *Streptococcus a* und die Körnung auch deutlicher.

In Milchzuckerbouillon beginnt die Trübung bei 35° bereits nach 24 Stunden. Nach 48 Stunden ist sie ausgesprochen. *Streptococcus b* wächst also im Gegensatze zu *Streptococcus a* gut bei höheren Temperaturen. Bei 22° tritt die Trübung langsamer ein; nach 24 Stunden noch nicht sichtbar, ist sie nach 2 Tagen deutlich.

In gewöhnlicher Nährbouillon ist das Wachstum sehr spärlich. Die Milch wird von *Streptococcus b* nicht zum Gerinnen gebracht, obwohl Säure produziert wird. Es ist dieses um so merkwürdiger, als dieser Mikroorganismus etwas mehr Säure und auch entsprechend mehr Gas bildet als *Streptococcus a*. Die Säure- und Gasbestimmungen wurden in gleicher Weise wie bei letzterem ausgeführt. Die folgenden Tabellen zeigen das Resultat:

#### Gebildete Säure.

Verbrauchte Natronlauge				
Nach 2	Tagen	4,5 ccm	=	0,1012 g Milchsäure
" 3	"	8,5 "	=	0,1812 "
" 4	"	10 "	=	0,2250 "
" 5	"	10 "	=	0,2250 "
" 6	"	10,5 "	=	0,2362 "
" 7	"	10,5 "	=	0,2362 "
" 8	"	10,5 "	=	0,2362 "
" 9	"	10,5 "	=	0,2362 "
" 10—15	"	10,5 "	=	0,2362 "

#### Gasproduktion.

Nach 2	Tagen	Spuren
" 3	"	4 ccm
" 4	"	7,5 "
" 5	"	8,5 "
" 6	"	9,5 "
" 7	"	10 "

Nach	8 Tagen	10,5 ccm
"	9	10, $\frac{3}{4}$ "
"	10	11,5 "
"	13	12 "
"	16	12 "

Auf der Kartoffel wächst *Streptococcus b* ebensowenig wie *Streptococcus a*.

*Streptococcus b* hat auch eine etwas ovale Form. In Präparaten jedoch, in welchen die Kokken dicht gedrängt bei einander stehen, nehmen sie eine unregelmäßige, eckige Gestalt an. Ihr Durchmesser beträgt in Agar ca. 1  $\mu$ , etwas weniger in den Präparaten aus Gelatineplatten aus den Präparaten aus Agar- und Gelatineplatten tritt er meist in Gruppen oder in Diplokokkenform auf, jedoch sieht man auch hie und da Ketten; letztere sind in den Stichkulturen zahlreich. In den flüssigen Nährmedien tritt er in Ketten- und Diplokokkenform auf. In Milch sieht man, wenn man die Präparate ungefärbt untersucht, daß die Ketten und Diplokokken innerhalb einer Kapsel liegen.

*Streptococcus b* läßt sich leicht mit den gebräuchlichen Anilinfarben und nach Gram färben.

Gegenüber der Wärme ist *Streptococcus b* etwas widerstandsfähiger als *Streptococcus a*. Temperaturen von 50°, 55° und 60° erträgt er 5 Minuten lang. Bei 55° und 60° ist jedoch etwelche Verspätung im Wachstum bemerkbar. Bei 65° wird er abgetötet.

Austrocknung ertrug er 2 Tage lang ohne Schaden. Nach 3 Tagen war anfänglich kein Wachstum mehr bemerkbar; in der Folge stellte sich dieses jedoch ein.

Gegenüber Karbolsäure ist er ebensowenig resistent als *Streptococcus a*. In 2 $\frac{1}{2}$ -proz. Verdünnung war er nämlich auch nach 30 Sekunden tot.

Anders verhielt er sich gegenüber Sublimat (1 $\frac{0}{00}$  Verdünnung). In einem ersten Versuche erwies er sich nach 15 Minuten noch als lebensfähig. Der Versuch wurde erneuert und bis auf eine Stunde ausgedehnt; wiederum zeigte er sich noch lebensfähig. In einem dritten Versuche, in welchem, wie in den beiden vorigen Versuchen, Bouillonkultur und Sublimatlösung (2 $\frac{0}{00}$ ) zu gleichen Teilen vermischt wurden, wurde nach  $\frac{3}{4}$  Stunde, 1 Stunde, 2 Stunden und 23 Stunden eine Platinöse des Gemisches in frische Bouillon übertragen. Jedesmal erhielt man eine normale Kultur. Es scheinen demnach in den Milchezuckerbouillonkulturen des *Streptococcus b* Produkte sich zu bilden, die das Sublimat binden und unwirksam machen. Dieses wird durch einen vierten Versuch wahrscheinlich gemacht, in welchem kleine Stückchen Fließpapier mit Bouillonkultur getränkt, darauf für 30 Sekunden, 1, 2, 5, 15 und 60 Minuten in eine 1 $\frac{0}{00}$  Sublimatlösung eingetaucht, in Alkohol und Wasser ausgewaschen und dann in Bouillon eingesät wurden; mit Ausnahme eines Kölbchens blieben alle diese Einsaaten steril; merkwürdigerweise war letzteres dasjenige Kölbchen, welches das 15 Minuten lang

in der Sublimatlösung gelegene Stückchen Fließpapier enthielt. Es scheinen jedenfalls einzelne Kokken resistenter zu sein.

Bei der Kefirgärung scheint nun diesem Mikroorganismus eine interessante Rolle zuzufallen. Wie wir gesehen haben, ist die Kefirhefe allein nicht imstande, den Milchzucker zu vergären; gesellt man ihr jedoch den *Streptococcus b* zu, so nimmt sie nun an der Gärung teil, wie folgende Experimente zeigen. Milchzuckerbouillon wurde zunächst mit der Hefe allein als Kontrolle in einem Gasgärapparat geimpft; nie trat Gasbildung ein; andere Gasgärapparate wurden nun gleichzeitig mit dem *Streptococcus b* allein und mit diesem Mikroorganismus vereint mit der Hefe geimpft; in letzterem Falle trat nun eine viel bedeutendere Gasproduktion ein, als in der bloß mit dem *Streptococcus b* geimpften Milchzuckerbouillon. Während in letzterer die Gasproduktion nach 13 Tagen stets aufgehört hatte, oft auch schon früher, und nie über 12 ccm betrug, zeigt folgende Tabelle, wie anhaltender die Gasbildung in der gleichzeitig mit der Hefe und dem *Streptococcus b* geimpften Milchzuckerbouillon war.

Hefe mit *Streptococcus b* geimpft.

Nach	2 Tagen	Spuren	Gas
"	3	3	ccm "
"	4	4,5	" "
"	5	9,5	" "
"	7	15	" "
"	8	18,5	" "
"	9	21,5	" "
"	10	24	" "
"	11	27	" "
"	13	30,5	" "
"	14	32	" "
"	15	34,5	" "
"	16	36	" "
"	17	38	" "
"	18	39,5	" "
"	22	43,5	" "
"	23	45	" "

Die Hefe vergärt also hier ganz bedeutende Mengen Milchzucker, die der *Streptococcus b* allein nie vergären könnte.

Der Versuch wurde noch in anderer Weise wiederholt. Ein Gärkolben wurde geimpft mit dem *Streptococcus b* und als die Gasbildung aufgehört hatte, impfte man eine Spur Hefe hinein. Am folgenden Tage zeigte sich bereits ein Anfang von Gärung, nach 2 Tagen hatten sich 5,5 ccm Gas und nach 4 Tagen 16 ccm Gas gebildet. Jedenfalls also bringt der *Streptococcus b* eine Spaltung des Milchzuckers hervor, die dessen Vergärung durch die Kefirhefe ermöglicht. Als Kontrolle wurde natürlich auch in jedem Versuche die Hefe allein in Milchzuckerbouillon verimpft; nie trat Gärung ein.

(Schluß folgt.)



## Ueber Säureabnahme im Wein.

Von

Julius Wortmann.

Unter obigem Titel hat H. Müller-Thurgau in No. 22 dieser Zeitschr. vom vor. Jahrg. einige Angaben veröffentlicht mit dem Zwecke, die von Iwan Schukow in seiner vorläufigen Mitteilung in No. 19 dies. Centralbl. gegebene kurze historische Darstellung der Entwicklung unserer Kenntnis über vorliegenden Gegenstand zu berichtigen. Speziell kommt es Müller-Thurgau darauf an, nachzuweisen, daß die Schukow'sche Auffassung, nach welcher Müller-Thurgau einige zuerst von ihm ausgesprochene Ansichten über die Ursache der Säureabnahme mit der Zeit fallen gelassen hat, um sich der durch andere Autoren vertretenen anzuschließen, nicht richtig sei.

Da derartige, ausschließlich auf die Klarstellung von Meinungsäußerungen gerichtete Diskussionen zur Förderung positiver Kenntnisse nichts beizutragen vermögen und dementsprechend auch keinen wissenschaftlichen Wert haben, so würde ich es mir gern versagen, auch meinerseits zu diesem Gegenstande das Wort zu ergreifen. Allein da Müller-Thurgau in seiner versuchten Berichtigung behauptet, daß seine Veröffentlichungen von Schukow, welcher seine Untersuchungen unter meiner Leitung anstellte, eine Darstellung gefunden haben, „die geeignet ist, sie (die Müller'schen Veröffentlichungen) in ganz falschem Lichte erscheinen zu lassen“, so liegt hierin ein so schwerer Vorwurf willkürlicher Darstellung, daß mir ein Eingreifen meinerseits am Platze erscheint.

Der Gegenstand, um den es sich bei unserer Streitfrage handelt, nämlich die ursächlichen Vorgänge bei der Säureabnahme im Wein, dürfte wohl geeignet sein, auch das Interesse der Leser dieser Zeitschr. wachzurufen. Denn es handelt sich hierbei einerseits um Vorgänge, welche die Qualität des Weines ganz merklich beeinflussen und somit von höchster praktischer Bedeutung sind, andererseits aber weisen die aus den einschlägigen neueren Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse auf die wissenschaftlich bedeutungsvolle Thatsache hin, daß die Hefen vorzugsweise die Ursache der Säureverminderung sind. Es sind demnach diese Organismen keineswegs nur befähigt, unter Aufnahme von Zucker alkoholische Gärung zu erregen, sondern sie vermögen auch noch, nachdem der Zucker zum größten Teile oder ganz verbraucht ist, unter Umständen noch lange Zeit hindurch, eine andere Art der Gärung zu unterhalten, bei welcher an Stelle des Zuckers nun die im Wein enthaltene Säure, vornehmlich Aepfelsäure, von der Hefe verarbeitet wird.

Wie es in allen derartigen Fällen zu geschehen pflegt, sind in dem Maße als unsere Kenntnisse über die Erscheinungen noch jung und lückenhaft sind, auch unsere Vorstellungen über das Wesen der letzteren noch unklar und unvollkommen. Sie klären sich naturgemäß erst Schritt für Schritt mit den durch weitere Forschung zu tage geförderten Ergebnissen. Man könnte es also eigentlich als

selbstverständlich betrachten, und kann unmöglich einen Vorwurf daraus konstruieren, wenn Müller-Thurgau seine ursprüngliche, auf Grund nur gelegentlicher Beobachtungen und nicht präcis angestellter Versuche ausgesprochene Ansicht von der Ursache der Säureabnahme im Weine geändert und sie den Ergebnissen der von anderer Seite gemachten eingehenderen Untersuchungen angepaßt hat.

Der Zweck der von Schukow gegebenen kurzen historischen Darstellung war denn auch im wesentlichen der, zu zeigen, wie Müller-Thurgau seine ursprüngliche Ansicht, nach welcher die Säureabnahme durch rein chemische Prozesse stattfinden und nicht auf vitalen Vorgängen beruhen sollte, aufgegeben hat, um sich den auf Grund von speziellen Untersuchungen gewonnenen, übereinstimmenden Anschauungen von Kulisch und mir ganz anzuschließen. Es sollte eben gezeigt werden, daß nun bei denjenigen, welche sich überhaupt mit dem Studium dieser Erscheinungen befaßt hatten, in der Auffassung des Wesens derselben als vitaler, und zwar durch Hefethätigkeit bewirkter Prozesse schließlich vollständige Uebereinstimmung herrschte.

Mein Erstaunen war daher nicht gering, als ich den Müller'schen Artikel zu Gesichte bekam und aus demselben vernahm, daß sein Autor von dieser Uebereinstimmung gar nichts wissen will, sondern positiv erklärt, an seiner früher versuchten Deutung der Erscheinungen, allerdings nur zum Teil, auch heute noch festzuhalten; ja geradezu den Vorwurf erhebt, es seien seine Veröffentlichungen in ein ganz falsches Licht gestellt worden.

Um diesen Vorwurf von Herrn Schukow zu nehmen, bin ich genötigt, in Folgendem die in Betracht kommenden Angaben Müller's einer erneuten, aber etwas eingehenderen Behandlung zu unterziehen, zumal ich darin zu zeigen habe, daß Müller-Thurgau thatsächlich seine früher ausgesprochenen Ansichten fallen gelassen hat, allerdings ohne solches direkt auszusprechen.

Im Jahre 1888 veröffentlichte Müller-Thurgau im „Weinbau und Weinhandel“ einen Aufsatz: „Welche Vorgänge finden während der Gärung und Weiterentwicklung des Weines statt?“ In demselben führt Müller die von ihm auch in der Erwiderung in No. 22 dieser Zeitschr. angegebenen Versuche auf, welche ihn eben zu seiner ersten Ansicht von der rein chemischen Natur der Säureabnahme brachten.

Im nächstfolgenden Jahre (1889) publizierte Kulisch in derselben Zeitschrift seine Untersuchungen über die Säureabnahme in Weinen, auf Grund deren er dahin gelangt, diese Vorgänge als durch die Lebensthätigkeit der Hefen bewirkt, also als vitale Vorgänge anzusprechen.

Zwei Jahre später hielt Müller-Thurgau auf dem 12. deutschen Weinbau-Kongresse in Worms einen Vortrag: „Ergebnisse neuer Untersuchungen auf dem Gebiete der Weinbereitung“, in welchem er u. a. auch die Frage nach dem Verhalten der Säuren des Weines eingehend berührte. Nachdem er angeführt hat, daß schon Bous-singault eine beträchtliche Säureabnahme bei der Gärung von Aepfelweinen beobachtet hat, fährt Müller-Thurgau nun fort: „Für Traubenweine konnte ich vor Jahren eine ähnliche Säureab-

nahme, welche sich nicht etwa durch Ausscheidung von Weinstein erklären ließ, feststellen. Ich enthielt mich damals, eine bestimmte Erklärung der Ursache auszusprechen und äußerte nur die Vermutung: deshalb dürfte die festgestellte Säureabnahme als Folge des Sauerstoffeinflusses, also eines Oxydations- oder Verbrennungsvorganges die ungezwungenste Erklärung finden, und zwar werden hieran voraussichtlich Gerbsäure und Aepfelsäure in erster Linie beteiligt sein. Ich kam zu dieser Anschauung, weil diese Art der Säureabnahme erst nach abgeschlossener Gärung stattfand; doch schließt natürlich die letztere Thatsache eine anderweitige Erklärung nicht aus.“

Ich habe einige Stellen obiger Äußerung Müller's durch stärkeren Druck hervorgehoben, um sie als direkte Belege dafür anzuführen, daß Müller-Thurgau nun, nachdem die Untersuchungen von Kulisch vorlagen, auf seine ein Jahr zuvor ausgesprochene Ansicht keinen Wert mehr legt, dieselbe nur als Vermutung hinstellt und auch eine anderweitige Erklärung der Thatsachen für zulässig hält.

Es hat also Schukow zunächst Recht, wenn er behauptet, daß Müller-Thurgau diese erste Ansicht fallen gelassen habe. Müller-Thurgau ist auch in der Folge nicht wieder auf dieselbe zurückgekommen.

Müller-Thurgau lenkt nun auf die Untersuchungen von Kulisch ein und fährt fort: „Eingehende Untersuchungen über die Abnahme der Säuren in Aepfelweinen hat P. Kulisch gemacht. Derselbe kommt zu dem Ergebnis, die Säureabnahme sei eine Folge von Gärung, und zwar seien sowohl *Saccharomyces ellipsoideus* als *S. apiculatus* in gleicher Weise befähigt, dieselbe zu veranlassen. Er gelangte zu diesem Resultate durch Versuche, bei welchen in pasteurisiertem Moste mittels reiner Hefe die Gärung eingeleitet und die nachherige Säureabnahme konstatiert wurde.“

Von einer Wirkung der Hefe bei der Säureabnahme will Müller-Thurgau aber jetzt überhaupt noch nichts wissen, er lehnt die von Kulisch angeführten Versuche ab, indem er eigene dagegenstellt.

Müller-Thurgau fährt nämlich fort: „Bei Traubenweinen konnte ich eine derartige, durch Hefe bedingte Säureabnahme bisher nicht konstatieren, indem eine solche bei durch reine Hefe vergorenen und von fremden Organismen frei gehaltenen Weinen in Hunderten meiner Versuchsweine nicht eintrat. Dagegen habe ich in neuerer Zeit in einer Reihe von Weinen, in welchen eine beträchtliche Säureabnahme statthatte, Bakterien gefunden und zweifle auf Grund einer Reihe von Beobachtungen nicht daran, daß diese in manchen Fällen die Ursache der Säureabnahme sind. Weitere Untersuchungen, welche sich darauf beziehen, diese Bakterien zu isolieren, und durch deren Zusatz in Weinen die Säureabnahme künstlich zu veranlassen, sind noch nicht zum Abschluß gelangt.“

Für die Bakterien legt Müller-Thurgau in seinem erwähnten Vortrage noch mehrfach eine Lanze ein, indem er zur Unterstützung der ihm aus wissenschaftlichen Versuchen gewordenen Resultate auch mehrfache Beobachtungen aus der Praxis anführt, die

alle in gleicher Weise gedeutet werden. Als besonders ins Gewicht fallend muß ich hier einen von Müller-Thurgau angeführten Versuch mit Eberbacher Weinen citieren, bei welchem die Säureabnahme während des mehrjährigen Lagerens der Weine bis nach dem 5. Abstiche beobachtet, und dieselbe ebenfalls als durch Bakterien, also durch vitale Prozesse hervorgerufen hingestellt wurde. Ich führe auch hier wieder, um jeden Zweifel auszuschließen, Müller-Thurgau wörtlich an: „Ein interessantes Beispiel für ungleiche Säureabnahme bei nahezu gleich beschaffenen Weinen läßt sich den in Kloster Eberbach mit Weinen aus dem Domanialweinberge Steinberg angestellten Versuchen entnehmen. Von zwei 1885er Mosten A und B wurden je 2 Halbstückfässer gefüllt und das eine bei einer Kellertemperatur von  $10^{\circ}\text{C}$ , das andere bei einer solchen von  $20^{\circ}\text{C}$  zur Vergärung gebracht.“ „Während der Hauptgärung, bis zum 1. Abstich betrug die Säureabnahme bei sämtlichen 4 Weinen ziemlich übereinstimmend  $1,7\text{‰}$ , es ist dies eine Abnahme, welche gut durch die Weinstinausscheidung zustande kommen konnte. Späterhin verhielten sich die Weine wesentlich verschieden, indem bei beiden Weinen I vom 1. bis zum 5. Abstiche eine Gesamtabnahme von  $3,6\text{‰}$  zustande kam, bei den Weinen II dagegen nur eine solche von  $1,2\text{‰}$ .“

Müller-Thurgau fährt dann weiter fort: „Da ich zu jener Zeit noch nicht die Vermutung hegte, es möchten Bakterien bei der Säureabnahme beteiligt sein, wurden die Weine nicht nach dieser Richtung untersucht; jetzt aber komme ich zu der Anschauung, daß wohl die Weine I für das Gedeihen und die Wirksamkeit derselben bessere Bedingungen boten als die Weine II.“

Fassen wir nun zunächst einmal die Ergebnisse der Müllerschen Versuche und Anschauungen bis hierher zusammen, so ergibt sich:

1) Daß Müller-Thurgau im Jahre 1888 auf Grund unvollständiger Beobachtungen über die Säureabnahme in lagernden Weinen eine Ansicht aussprach, die er später selber wiederholt als umstößlich oder als bloße Vermutung bezeichnete.

2) Daß derselbe, nachdem die Beobachtungen Kulisch's veröffentlicht waren, nach einer anderweitigen Erklärung der Erscheinungen suchte, und diese letzteren auch als auf vitalen Prozessen beruhend ansah.

3) Daß derselbe keinen Unterschied machte zwischen der Säureabnahme unmittelbar nach der Gärung und derjenigen in lagernden Weinen, sondern diese Vorgänge einheitlich auffaßte und sie insgesamt auf die Thätigkeit von Bakterien zurückzuführen sucht.

4) Daß derselbe jedoch für diese seine zweite Ansicht keinen exakten Beweis beizubringen vermochte.

So standen auch noch die Dinge, als ich im Jahre 1894 meine zweite Abhandlung über die Reinhefen veröffentlichte; in welcher ich u. a. auch die Säureabnahme nach der Gärung streifte und dabei in Uebereinstimmung mit Kulisch nachwies, daß thatsächlich in

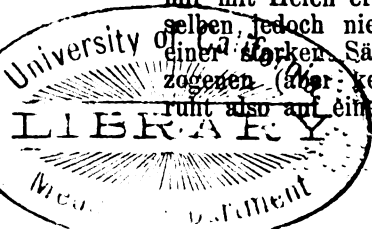
nur mit Reinhefen vergorenen Flüssigkeiten eine Säureverminderung eintritt; dann aber auch noch einen Schritt weiter ging durch die Beobachtung, daß verschiedene Heferassen sich in ihren Ansprüchen an die Säure verschieden verhalten; m. a. W., daß die Ausgiebigkeit der Säureabnahme zum Teil auf Rasseeigentümlichkeit der Hefe beruht. Die Müller'sche Ansicht von der Wirkung der Bakterien, für welche die Beweise ja immer noch beigebracht werden mußten, hielt ich damit für abgethan, und konnte das um so eher, als nun gleich im Jahre darauf Müller-Thurgau in einem in Neustadt a. H. gehaltenen und auch im Druck erschienenen Vortrage „Ueber neuere Erfahrungen bei Anwendung der Reinhefen in der Weinbereitung“ diese meine Befunde mit den Worten anerkennt: „Die von anderer Seite festgestellte Thatsache, daß derselbe Most, mit verschiedenen Heferassen vergoren, Weine von mehr oder weniger abweichendem Säuregehalt ergibt, konnten wir bestätigen.“

Es ist mir auch heute noch nicht möglich, in diesem letzteren Ausspruche Müller's etwas anderes zu erblicken als das Zugeständnis, daß thatsächlich die Säureabnahme im Weine als auf der Thätigkeit von Hefe beruhend exakt nachgewiesen ist.

In dem erwähnten, in Neustadt gehaltenen Vortrage berührt Müller-Thurgau nun seine früher ausgesprochene Ansicht, nach welcher Bakterien die Ursache der Säureabnahme sind, mit keinem Wort mehr und des weiteren schweigt er auch bei dieser Gelegenheit vollständig darüber, daß nach seiner Vorstellung nun die Säureabnahme in Weinen auf zwei ganz von einander getrennten Vorgängen beruhe. Es ist deshalb Schukow durchaus berechtigt gewesen zu der Annahme, daß Müller-Thurgau nach 1894 auch auf seine zweite Ansicht kein Gewicht mehr lege; Schukow war dazu um so eher berechtigt, als bis dahin, und auch bis heute noch nicht, jene von Müller-Thurgau angekündigten Bakterien-Impfversuche veröffentlicht wurden. Entweder sind diese Versuche von negativem Resultate begleitet gewesen oder aber Müller-Thurgau hat, von der Unhaltbarkeit seiner Ansicht bald überzeugt, dieselben überhaupt nicht weiter fortgesetzt. Daß Müller-Thurgau aber auch diese zweite Ansicht von der Bakterienwirkung verlassen hat, geht überdies ganz deutlich aus seiner jüngsten Erwiderung hervor, in der er dieselbe geradezu nur als eine damals ausgesprochene Vermutung bezeichnet.

Müller-Thurgau hat also thatsächlich beide von ihm ausgesprochenen Ansichten über die Ursache der Säureabnahme fallen gelassen, resp. sich allmählich darüber ausgeschwiegen. Eine andere Ansicht aber über das Wesen jener Vorgänge hatte Müller-Thurgau bis zum Erscheinen des Schukow'schen Aufsatzes nicht ausgesprochen.

Wenn nun Müller-Thurgau in seiner Erwiderung die von mir mit Hefen erzielten Ergebnisse erwähnend sagt: „Ich habe dieselben jedoch niemals auf jene früher dargelegten Erscheinungen einer starken Säureabnahme in ausgegorenen, von der Hefe abgezogenen (aber keineswegs hefeireien!) Weinen bezogen und es beruht also auf einem Irrtum, wenn in der von der pflanzenphysiolo-



gischen Versuchsstation Geisenheim ausgehenden Mitteilung gesagt wird, ich hätte meine frühere Ansicht fallen gelassen“, so muß man fragen, welches ist denn nun diese frühere Ansicht Müller's, da derselbe doch bis dahin thatsächlich keine andere ausgesprochen hatte?

Nach der von Müller jetzt, d. h. nach dem Erscheinen des Schukow'schen Aufsatzes, angedeuteten Vorstellung, welche aber etwas ganz anderes in sich schließt als seine in Worms ausgesprochenen Darlegungen, und welche daher keineswegs das wiedergibt, was Müller-Thurgau vorher annahm und was Schukow allein zu berücksichtigen hatte, beruht der Vorgang der Säureabnahme auf zwei ganz verschiedenen Erscheinungen:

1) Die Säureabnahme während und nach der Gärung bis zu den Abstichen wird durch Hefethätigkeit bewirkt. Das wurde von Kulisch und mir bewiesen, und sagt Müller-Thurgau damit nichts Neues.

2) Die nach den Abstichen noch weiter fortschreitende Säureabnahme aber beruht nach Müller-Thurgau nicht auf Wirkung der Hefe, sondern wird durch andere Ursachen hervorgerufen, über welche er indessen keine Ansicht äußert.

Denn Müller-Thurgau läßt uns vollständig im Unklaren darüber, wie denn nun jene Säureabnahme in lagernden Weinen vor sich gehen soll. Er spricht auch heute noch keine Ansicht darüber aus! Rein chemische Prozesse können es ja nach Müller nicht sein, denn diese Ansicht hat er bereits 1891 fallen gelassen; es bleiben danach also nur vitale Vorgänge übrig. Von etwa wirkenden Organismen kommen nur Bakterien und Hefen in Betracht. Die ersteren können es nach Müller-Thurgau's jetziger Auffassung nicht sein, es sind überdies auch noch keine Beweise dafür vorgebracht. Daß eine Hefethätigkeit vorliegt, bestreitet Müller-Thurgau aber ebenfalls. Müller-Thurgau hat also über die vorliegenden Erscheinungen sich auch heute noch keine bestimmte Ansicht bilden können, und somit ist Schukow vollständig im Rechte gewesen, wenn er behauptete, daß Müller-Thurgau beide von ihm positiv ausgesprochenen Ansichten, nämlich die von der chemischen und die von der Bakterienwirkung, fallen gelassen hat.

Wenn Müller-Thurgau nun in seiner jüngsten Erwiderung versucht, plausibel zu machen, daß die bei abgestochenen Weinen beobachtete, oft starke Säureabnahme nicht auf Wirkung von Hefen zurückgeführt werden könne, weil in einigen von ihm beobachteten Fällen „sozusagen“ keine Hefe sich vorfand, so ist damit von ihm noch keine Ansicht darüber ausgesprochen, wie denn jene Vorgänge nun zustande kommen, und des Weiteren ist diesem Einsprüche Müller's auch wissenschaftlich kein Gewicht beizulegen, denn einmal ist „sozusagen“ überhaupt kein Ausdruck, mit dem man hier wissenschaftlich etwas anfangen kann, und zudem ist auch das von Müller angeführte Thatsächliche kein Beweis gegen die Wirkung der Hefen.

Wenn, wie Müller-Thurgau anführt, die Gesamtheife in einem Halbstückfaß (ca. 600 Liter) nach dem 4. Abstiche nur 2 Gramm (aber

im trockenen Zustande, und das erscheint mir sehr viel!) gewogen hat, so ist damit durchaus nicht nachgewiesen, daß diese Hefe nicht die Säureabnahme verursacht hat; denn es fehlen uns noch jegliche Anhaltspunkte für die Beurteilung der säurezerstörenden Thätigkeit in Bezug auf die Quantität der Hefen. Im Gegenteil ist die That- sache, daß die beobachtete starke Säureabnahme erst verhältnismäßig spät, zu einer Zeit, wo nur noch relativ wenig Hefe im Weine war, auftrat, viel eher zu gunsten einer Hefethätigkeit als wie Müller will, dagegen zu deuten. Denn nachdem die großen Hefemengen, die durch die wiederholten Abstiche nach und nach aus dem Weine entfernt waren, auch die meisten und bestnährenden Stoffe aus dem Weine mitgenommen haben, bleibt für die noch restierenden Zellen nur noch schlecht nährnde und schwerer angreifbare Substanz zurück, welche dafür nun aber in entsprechend größeren Mengen aufgenom- men wird und aus dem Weine verschwindet. Außerdem haben diese Hefen  $1\frac{1}{4}$  Jahr lang, vom 17. Oktober 1885 bis 14. Dezember 1886 im Weine arbeiten können.

Vorläufig also haben wir, gestützt auf exakte Versuche, noch keinen Grund, den Einspruch Müller- Thurgau's, nach welchem die Säureabnahme in lagernden Weinen nicht auf Hefethätigkeit beruhen soll, anzuerkennen, sondern müssen warten, bis derselbe eine be- stimmte, durch wissenschaftliche Versuche unterstützte Ansicht darüber vorbringt.

Geißenheim a. Rh., 7. Januar 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Kleinere mykologische Mitteilungen <sup>1)</sup>.

[Aus dem Techn.-chem. Laborat. d. Techn. Hochschule zu Hannover.]

Von

Dr. C. Wehmer.

Mit 1 Tafel.

### I. Zur Oxalsäuregärung durch *Aspergillus niger*.

Daß von Pilzen die Oxalsäure auch als freie Säure erzeugt und innerhalb der Kulturflüssigkeit als solche angesammelt werden kann, habe ich seiner Zeit an einigen Beispielen genauer erwiesen <sup>2)</sup>. Es stellte sich bei dieser Gelegenheit auch heraus, daß gerade *Aspergillus niger* van Tiegh. einer der lebhaftesten Bildner dieser Säure ist, indem derselbe bis zur Hälfte des ihm gebotenen Zuckers an Oxalsäure produzierte, sobald diese kontinuierlich durch kohlen-

1) Kürzere Mitteilungen über Beobachtungen und Versuche, die im wesentlichen als Ergänzungen zu bereits bekannten Thatsachen zu betrachten sind. Von einer ausführlichen Wiedergabe des experimentellen Materials ist abgesehen, ebenso durfte die Litteratur, als im allgemeinen bekannt, nebensächlich behandelt werden.

2) Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze (Bot. Zeitg. 1891).

sauren Kalk oder anderweitige, Gleiches leistende Salze festgelegt wird.

Die neuerdings erfolgte Wiederaufnahme solcher Versuche ergab nun das zunächst immerhin befremdende Resultat, daß dies Vermögen des *Aspergillus* keineswegs etwas Unveränderliches ist. Auffällig ist die Thatsache freilich nicht in Hinblick auf anderweitige ähnliche Erscheinungen, sondern nur deshalb, weil sie bei den früheren sehr zahlreichen Kulturen nie hervorgetreten war, obgleich dieselben sich doch über einen namhaften Zeitraum (ca. 2 Jahre) erstreckten und immer das gleiche Kulturmaterial fortlaufend weitergezüchtet wurde.

Es wäre also wohl Grund zu einer sogen. „Entartung“ hinreichend vorhanden gewesen, während thatsächlich die Säureabspaltung immer gleich energisch blieb.

Die jetzigen Kulturen ergaben demgegenüber im besten Falle nur Spuren freier Oxalsäure, die zwar durch Kongo-Bläuung nachweisbar waren und einige Oxalatkryställchen lieferten, jedoch nicht zu jener früher beobachteten durch ihre Intensität fast auffälligen Erscheinung einer eigentlichen Oxalsäuregärung<sup>1)</sup> führten. Bei Zugabe von Kalkkarbonat verschwand der saure Charakter der Flüssigkeit, und damit stand auch die Reaktion still, so daß also eine weitere Säureabspaltung ausblieb. Wurden die Kulturen direkt mit Kalkkarbonat angesetzt, so trat eine wahrnehmbare Oxalatabscheidung überhaupt nicht ein.

Ich habe diese Versuche im Verlaufe der letzten Jahre wiederholt mit demselben negativen Resultate angestellt (insbesondere sind sie ja auch für Demonstrationsversuche geeignet, insofern das sich unlöslich abscheidende Kalksalz Qualität wie Quantität des entstandenen Gärprodukts anschaulich vorführt) und alsbald (nach einigen Wochen) wieder abbrechen müssen, ohne daß ich eine Erklärung dafür hatte.

Die Bedingungen entsprachen im übrigen selbstverständlich ganz den früher eingehaltenen; es wurden also 5—10-proz. Zuckerlösungen (mit den gleichen Mineralsalzen) verwendet, auf denen der Pilz in kurzem die bekannten schwarzbraunen Decken bildete. Da das alte aufbewahrte Material nicht mehr keimfähig war (*A. niger*-Conidien büßen die Keimfähigkeit meist schon nach 2—3 Jahren vollständig ein), wurde der Pilz hier neu eingefangen und eben in diesem Moment liegt eigentlich der einzige sichtbare Unterschied, wenigstens wenn wir davon absehen, daß die benutzten chemischen Präparate anderen Ursprungs waren. Wir müßten dann also folgern, daß der jetzt kultivierte Pilz von dem früheren physiologisch etwas abweicht, wenngleich er morphologisch ganz mit jenem übereinstimmt, denn gerade letzteres ist für diese gut charakteristische Art ja leicht festzustellen. Es bliebe dann also, daß auch diese Species hinsichtlich des Gärungsvermögens sich nicht immer gleich bleibt und somit auch innere Zustände über Auftreten und Grad dieses entscheiden können.

1) Uebrigens werden wir die Benennung „Oxalsäuregärung“ wohl auf die Prozesse beschränken müssen, wo es thatsächlich zu einer Abspaltung und Ansammlung freier Oxalsäure kommt. Das Erscheinen geringer Mengen von Oxalaten, die ja auch im Stoffwechsel der Pilze fast allgemein auftreten, dürfte kaum unter den Begriff „Gärung“ fallen, so schwankend derselbe nun auch ist.



Denn daß äußere Verhältnisse gleichfalls über das Zustandekommen der Oxalsäuregärung bestimmen können, und wir dieselbe durch die chemische Zusammensetzung der Nährlösung willkürlich nach dieser oder jener Richtung (Minimum, Maximum, gänzliche Verhinderung) abändern können, wurde seiner Zeit bereits von mir dargethan.

Es früge sich nun, ob es nicht gelingt, durch irgend welche Eingriffe ein lebhaftes Säuerungsvermögen herzustellen, somit gleichsam eine stark säuernde Form zu „erziehen“, und der Lösung dieses Problems käme jedenfalls ein gewisses wissenschaftliches Interesse zu. Die Thatsache des Variierens derartiger Eigenschaften ist ja an sich hinlänglich bekannt, bezüglich der Säuerungsprozesse im speziellen liegt eigentlich bislang nur einiges Material über die Milchsäuregärung vor.

## II. Einige Beobachtungen über den Einfluss des Alters und der Temperatur auf die Entwicklungsfähigkeit von Mycelpilzsporen.

### 1. Alterseinfluß.

Die Dauer der Keimfähigkeit von Pilzsporen schwankt je nach der Species bekanntlich zwischen außerordentlich weiten Grenzen; Umstände mancherlei Art spielen dabei überdies noch eine Rolle (Art der Aufbewahrung, Temperatur, Feuchtigkeit u. a.), so daß die Resultate selbst für die gleiche Species von Fall zu Fall etwas verschieden ausfallen können<sup>1)</sup>. Die nachfolgenden Angaben beziehen sich fast durchweg auf trockenes Material, das in Fließpapier eingeschlagen, bezw. in geschlossenen Gefäßen, bei Wohnzimmertemperatur aufbewahrt wurde.

*Aspergillus Oryzae* (Ahlbg.) Cohn. Die Conidien dieses Pilzes gehören jedenfalls mit zu den am längsten ihre Keimkraft bewahrenden Pilzsporen. 4 Jahre reichen noch nicht hin — es ist dies ungefähr das Alter des mir vorliegenden japanischen Koji's — dem trocken aufbewahrten Pulver seine Keimfähigkeit zu nehmen, indem nach dieser Zeit wenigstens noch eine ganze Zahl von Conidien zu Mycelien auswuchs. Bei Zimmertemperatur war die Entwicklung in Zuckerlösung freilich träge, merklich schneller aber bereits im Brutschrank (37° C), wo nach 3 Tagen erbsengroße, zur Conidienträgerbildung sich anschickende Mycelpolster entstanden waren, die Aussaat ganzer Kojikörner gleichen Alters auf gedämpften Reis oder gekochte Sojabohnen lieferte bei 37° C schon nach 3 bis 4 Tagen dichte weiße Schimmelbezüge mit langen, teilweise bereits sich färbenden Conidienträgern. Die Schwächung durch das 4-jährige Alter ist hiernach im ganzen nur eine geringe und kaum ins Gewicht fallend.

*Aspergillus niger* van Tiegh. Der Alterseinfluß macht sich

1) Das bekannteste hierher gehörige Beispiel ist wohl das des *Phycomyces nitens* (de Bary, vergl. Morphologie, 1884. p. 369), dessen Sporen ich gelegentlich selbst über 1 Jahr hinaus noch keimfähig fand. Uebrigens influirt, zumal bei älteren Sporen, auch die Natur des Substrats schon stark (cf. oben), was immerhin zu beachten ist; auch die Temperatur spielt da schon eine erheblichere Rolle.

bei dieser Art weit bemerkbarer, indem oft schon nach einem Jahre viele Konidien tot sind, die noch übrigen lebensfähigen aber nur eine träge Entwicklung zeigen und hierin merklich durch geringfügige Momente in der Nährlösungszusammensetzung beeinflusst werden, was ja sonst bei diesem lebenskräftigen Pilz kaum der Fall ist. Das mir vorgelegene älteste noch entwicklungsfähige Sporenmaterial war nicht ganz 3 Jahre alt (2 Jahre 9 Monate); hier waren aber die allermeisten Conidien bereits tot, so daß sie unverändert noch nach 1—2 Wochen auf der Flüssigkeitsoberfläche schwammen, und nur von 3 Stellen aus entwickelten sich innerhalb der ersten 7 Tage zarte, sehr langsam wachsende Mycelflocken (Temperatur 20° C). Merklich günstiger war das Resultat freilich mit verdünnter Bierwürze — obiges gilt für 5-proz. Dextrose mit Mineralsalzen — wo eine größere Zahl von Conidien langsam auswuchs, um endgiltig die normalen schwarzen Polster zu liefern. Aber auch hier blieben die meisten Conidien unverändert.

Dreijähriges Aufbewahren stellt hiernach die Keimfähigkeit von Aussaatmaterial dieses Pilzes schon stark in Frage; die Mehrzahl der Sporen ist aber schon nach weit kürzerer Zeit (1—2 Jahre) nicht mehr entwicklungsfähig<sup>1)</sup>.

*Aspergillus Wentii* m. Das mir zur Verfügung stehende älteste Material war ca. 1 Jahr alt. In Zuckerlösung (mit Nährsalzen) ausgesät keimten die Conidien auch bei nur 15° C ziemlich vollzählig zu einer normalen Decke aus, so daß Keimfähigkeit wie Wachstumsintensität durch diesen Zeitraum nicht wesentlich beeinflusst wird.

*Chlamydomucor Oryzae* Went. Gemmenhaltiges eingetrocknetes farbloses Mycel von ungefähr 1 1/2-jährigem Alter wuchs in Zuckernährlösung innerhalb der ersten Woche zu der charakteristischen weiß-wolligen Decke aus, so daß die Entwicklungsfähigkeit der Gemmen (Chlamydosporen) hiernach relativ lange andauert. Diese Thatsache widersprach meiner Erwartung, wie denn auch Went, dem ich das Kulturmaterial des Pilzes verdanke, der Meinung war, daß der Pilz kaum die Dauer des Transportes (ab Java) überleben werde. Daß seine Elemente in dem japanischen „Ragi“ gleichfalls noch nach Jahresfrist (laut Feststellung) lebenskräftig sind, bedarf hiernach kaum besonderer Hervorhebung. Ueberhaupt erhalten sich die charakteristischen Organismen des „Ragi“ durchweg sehr lange entwicklungsfähig, so daß sie aus den ca. 1 Jahr lang aufbewahrten Reismehlkuchen schon nach wenigen Tagen der Kultur eine sehr lebhafte Vegetation aufnehmen und leicht zu isolieren sind.

*Monascus purpureus* Went.<sup>2)</sup> Der Pilz des „roten Reis“ („Angkhak“) scheint dagegen empfindlicher gegen das Alter zu sein.

1) De Bary giebt die Dauer der Keimfähigkeit auf über 1 Jahr an (l. c.); für den Durchschnitt ist sie jedenfalls nicht viel höher anzuschlagen. Daß dabei nicht bloß äußere Verhältnisse (Art der Aufbewahrung etc., Besonderheit der Keimungsbedingungen) mitsprechen, ergibt sich schon aus dem ungleichen Verhalten der einzelnen Conidien.

2) *Annales des sciences natur.* VII. Sér. Botanique 1896. — Mitteilungen speciell über Angkhak machten auch Vordermann und Prinsen-Geerligs.

Allerdings vermag ich die Zeit der Darstellung des mir vorliegenden Präparates, das ich gleichfalls der Liebenswürdigkeit von Dr. Went verdanke — nicht genauer anzugeben; sie liegt wenigstens um ein Jahr zurück, worauf auch das Aussehen der Reiskörner schließen läßt. Bei den Versuchen, den Pilz daraus zu isolieren, ergab sich, daß der bei weitem größte Teil seiner Elemente (Sporen und Gemmen) tot war (möglicherweise wenden die Chinesen beim Trocknen auch höhere Wärme an). Dagegen hat man mit Unmengen von Bakterien zu kämpfen, die diese Versuche erheblich erschweren. Nur in 2 Fällen gelang es, lebendes Mycel zu erhalten, womit jedenfalls erwiesen ist, daß in derartigen älteren Präparaten nicht alle Elemente bereits abgestorben sind. Ob übrigens der angegebene Arsenikgehalt des „Angkhaks“ ausreicht, Fremdorganismen bei der Kultur abzuhalten (und in Betracht kämen da ja vorzugsweise Bakterien), scheint mir nach jenen Erfahrungen doch des näheren Verfolges wert.

## 2. Temperatureinfluß.

Ueber den Einfluß mittlerer Wärmegrade (15—40° C) auf die Sporenkeimung und Entwicklung habe ich einige Erfahrungen speciell hinsichtlich der *Aspergillus*arten<sup>1)</sup> gesammelt, deren mir 11 in Kultur vorlagen. Ein Teil dieser Species hat bekanntlich ein höher liegendes Wachstumsoptimum (30—40° C), und da schien es nicht undankbar, auch das Verhalten der übrigen Species bei diesen Wärmegraden etwas näher zu verfolgen. Es hat das insofern auch noch eine Bedeutung, als Verwechselungen ähnlich gefärbter Species mit offenbar sehr verschiedenen Wärmeansprüchen bereits wiederholt vorgekommen sind (*A. glaucus* und *A. fumigatus*). Die Mehrzahl der Species bildet bekanntlich grüne Decken, deren Nuance auch bei der gleichen Art sehr variabel ist. Indem ich hier nur kurz über die einen Teil anderer etwas weiter ausgreifender Ermittlungen bildenden Versuche referiere, ergab sich da als Resultat, daß jenen „thermophilen“ Arten eine Reihe anderer als geschlossene Gruppe gegenübersteht, die nichts weniger als wärmeliebend, sondern vielmehr außerordentlich empfindlich gegen eine geringe Temperatursteigerung ist. In der That liegt das Wachstumsmaximum dieser meist noch erheblich unter dem Optimum jener, so daß im großen und ganzen Wärmegrade von 35—40° C ausreichen, ihre Entwicklung zu unterdrücken. In bescheidenem Maße hat — wie das neuerdings auch von Thiele<sup>2)</sup> näher studiert wurde — die Natur des Substrats hier allerdings einen Einfluß auf die Lage des Maximums, so daß bei der genannten Temperatur unter Umständen noch eine sehr kümmerliche Entwicklung zustande kommen kann; diese ist aber für unseren Fall so unbedeutend, daß sie hier füglich übergangen werden kann. Im allgemeinen findet auf zutragenden Substraten, die also bei 20—25° C eine normale Entwicklung gewährleisten (Würze, Zuckerlösung), nicht

1) Es liegen hier bekanntlich schon mancherlei Angaben vor, auf deren ausführliches Heranziehen hier aber verzichtet werden darf. Sie decken sich nur teilweise mit den mitgeteilten Befunden; einzelne werden unten noch kurz berührt werden.

2) „Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze in verschiedenen Nährlösungen.“ Leipziger Inaug.-Diss. 1896.

einmal mehr Auskeimen der Conidien statt. Die Herstellung der für einen Teil der Species optimalen Wachstumsbedingungen hat also für den anderen bislang näher darauf geprüften Teil dieser Gattung gerade den entgegengesetzten Erfolg: die Entwicklung wird verhindert. *A. fumigatus* und *A. glaucus* sind bekannte Beispiele für diesen bemerkenswerten physiologischen Gegensatz. Während aber erstere Species auch bei gewöhnlicher Temperatur ziemlich normal fortkommt, vermag *A. glaucus* nebst 2 anderen ähnlichen grünen Species bei Bluttemperatur im allgemeinen nicht mehr zu gedeihen<sup>1)</sup>, und sie können von den thermophilen grünen Species solcher Art leicht praktisch unterschieden werden; die Temperaturbreite ihrer Vegetation ist gleichmäßig eine wesentlich geringe.

Die Sonderung der untersuchten Species in jene 2 Reihen ergibt da also Folgendes:

- a) Wärme-liebende Arten  
(bei Bluttemperatur lebhaft wachsend)
- |                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| 1) <i>A. fumigatus</i> Fres.         | } grüne, gelblich- oder<br>grau-grüne Arten |
| 2) „ <i>flavus</i> Bref.             |   |
| 3) „ <i>Oryzae</i> (Ahlbg.) Cohn     |   |
| 4) „ <i>niger</i> van Tiegh. . . . . |   |
| 5) „ <i>Wentii</i> m. . . . .        | (schwarzbraun)<br>(braungelb)               |
- b) Wärme-feindliche Arten  
(bei Bluttemperatur meist vollständig versagend)
- |  |   |
|--|---|
| 1) <i>A. albus</i> Wilb. <sup>2)</sup> . . . . . | (weiß)                                      |
| 2) „ <i>glaucus</i> de By.                       | } grüne, gelblich- oder<br>grau-grüne Arten |
| 3) „ <i>minimus</i> m.                           |   |
| 4) „ <i>varians</i> m.                           |   |
| 5) „ <i>Ostianus</i> m. . . . .                  |   |
|  | (bräunlich)                                 |

Bezüglich der Versuchsbedingungen sei bemerkt, daß die reichlich mit Conidien geimpften (Platinöse) Kulturkolben (Substrate: Zuckerlösung mit Mineralsalzen, Bierwürze, gedämpfter Reis, Weißbrot) rund 4 Wochen bei ca. 37,5° C im Brutschrank<sup>3)</sup> belassen wurden; schon in den ersten 2—3 Tagen ergaben die Arten der 1. Reihe ansehnliche rasch wachsende Decken, während die der 2. Reihe bis Schluß meist ohne jede sichtbare Vegetation blieben (Zuckerlösung, Bierwürze). Nur eine Species machte von diesen insofern eine kaum merkbare Ausnahme, als sie innerhalb 30 Tagen überaus langsam ein sehr dürrtiges steriles Mycel erzeugte (*A. minimus*). Bei Verwendung von Brot als Substrat wurde dann festgestellt, daß eine Sporenkeimung und sehr dürrtliche Entwicklung

1) Die Angabe, daß das Maximum für *A. glaucus* bei 28—30° C liegt, ist allgemein gehalten aber unzutreffend, da z. B. auf gekochtem Weißbrot bei Bluttemperatur noch eine dürrtliche Entwicklung möglich ist; allerdings nicht in Zuckerlösung oder auf Würse. *A. repens* sah auch Siebenmann bei 30° noch Perithezien bilden; *repens* und *glaucus* gehören aber zusammen.

2) Für *albus* soll das Optimum bei 15—25° C liegen (Siebenmann, Die Schimmelmikroskopen des menschlichen Ohres, 1889). Für *flavus* nach eben demselben bei ca. 28°, während von anderer Seite (Johann-Olsen) hier 35—38° C angegeben werden. Der von mir kultivierte Pilz hat seine optimale Wachstumstemperatur jedenfalls um 40° C herum.

3) Die konstante Wärme des Apparats (Wassermantel) betrug mit sehr geringen Schwankungen 30° R also 37,5° C; mit Angabe von 35—40° sind etwaige geringfügige Schwankungen nach unten oder oben also gebührend berücksichtigt. Auf das ausführliche Versuchsdetail ist bei anderer Gelegenheit zurückzukommen.

(sparsames Mycel und einzelne Conidienträger) bei dieser Temperatur für einige Fälle (*A. Ostianus* und *A. glaucus*) allerdings noch möglich ist, das Maximum dann also etwas höher liegt als bei Benutzung von zuckerhaltigen Flüssigkeiten mit Mineralsalzen oder verdünnter Würze.

Der Beweis, daß eben ausschließlich die Temperatur — es könnten ja auch andere Umstände mitspielen — an dem negativen Erfolge beteiligt ist, wurde dadurch geführt, daß die vegetationslos gebliebenen Kolben nach 4-wöchentlicher Versuchsdauer bei Zimmertemperatur weiter beobachtet wurden. Es ergab sich da, daß jede der genannten Species alsbald unter diesen veränderten Verhältnissen zu einer mit reichlich Conidien bildenden Rasen abschließenden Entwicklung gelangt. Daraus ergibt sich also auch, daß die Wärme, bezw. plötzliche Erwärmung, nicht etwa tödend wirkt, sondern nur die Entwicklung verhindert; ein merklich schädigender Einfluß wurde — beiläufig bemerkt — gleichfalls bislang nicht konstatiert, denn das Versagen einzelner Versuche kann natürlich in mannigfachen Umständen begründet sein, wenn schließlich auch die Annahme, daß doch schließlich eine Schädigung resultiert, nicht unberechtigt sein mag. Auch ist zu beachten, daß einige dieser Arten (so z. B. *A. albus* und *A. glaucus*) sich bezüglich ihrer besonderen Ansprüche etwas eigenartig verhalten und nicht auf jedem Substrat immer ohne weiteres gedeihen.

Die Figg. 13—14 der Tafel bringen unmittelbar den Erfolg der Bruttemperatur auf 10 der genannten Arten zum Ausdruck (nach 6-tägiger Versuchsdauer photographiert). (Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Sind die Enchytraeiden Parasiten der Zuckerrübe?

[Mitteilungen aus der Versuchsstation für Zuckerindustrie in Prag.]

Von

**Dr. Jul. Stoklasa,**

Docenten an der K. K. techn. Hochschule in Prag.

Der bekannte Physiolog und Phytopatholog B. Frank hat in seiner Besprechung unseres Werkes <sup>1)</sup> den Wunsch geäußert („Deutsche Zuckerindustrie“. 1896. Mai), man möge einen direkten Beweis über die parasitische Thätigkeit der Enchytraeiden, *Dorylaimen* und *Tylenchen* erbringen.

Die zuletzt genannten Rübennematoden studiert eingehend Kollege Vaňha, betreffs der Enchytraeiden jedoch bin ich auf Grund der vorgenommenen Studien jetzt schon in der Lage, die verlangten Beweise zu bieten.\*

1) Die Rübennematoden der Gattung *Heterodera*, *Dorylaimus* und *Tylenchus*. Verfaßt von Joh. Vaňha und Dr. Jul. Stoklasa. Berlin (P. Parey) 1896.

Wie in anderen Jahren, haben die Enchytraeiden auch im vorigen Jahre in den Monaten April und Mai an den Wurzeln der zarten Rübenpflanzen schädlich gewirkt.

Von den durch Enchytraeiden beschädigten, mir von verschiedenen Beobachtern eingesandten Proben — ich erwähne hier insbesondere die Herren Direktor Bayer (Zlonic), Oberdirektor J. V. Goller (Königsstadtl), Märky (Libňoves) und Direktor Herbst (Kuttenberg) — habe ich die Enchytraeiden von Königsstadtl und Zlonic gewählt.

Gläserne, 30 cm hohe und 20 cm breite Cylinder, welche behufs Abflusses des überschüssigen Wassers in der Nähe des Bodens mit einem Tubus und einem Glasrohr versehen waren, wurden zuerst mittels Schwefelkohlenstoffes und 96-proz. Alkohol sterilisiert, hierauf wurden sie mit sterilisiertem sandigen Boden von nachstehender Zusammensetzung gefüllt<sup>1)</sup>:

In HCl unlöslicher Teil:

Sand und Silikate 98,81 Proz.

In HCl löslicher Teil:

CaO 0,57 „

MgO 0,14 „

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> + Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,58 „

Endlich wurde der Boden mittels sterilisierter Watte zugedeckt. In den derart vorbereiteten Boden wurden die vorerst mit sterilisiertem Wasser abgespülten Enchytraeiden gesteckt.

Hierauf wurden die früher ebenfalls in sterilisiertem Wasser gut durchgewaschenen Fruchtknäuel der Zuckerrübe (*Beta vulgaris*) in den Boden gesetzt.

Nach einigen Tagen sah man bereits die Knäulchen von den Enchytraeiden angegriffen; bei näherer Untersuchung fand man in der That den Samen entweder ausgefressen oder anders beschädigt.

Die Saat mußte mehrmals wiederholt werden.

Nach diesen Erfahrungen war es nötig, bei dem Versuche anders vorzugehen, und zwar setzte ich die Enchytraeiden an den Boden erst dann ein, bis die Keimpflänzchen ein gewisses Entwicklungsstadium erreicht hatten.

Die Knäulchensaat war schütter und zwar waren die einzelnen Knäulchen voneinander 5—6 cm entfernt; zu den neun Tage alten Keimpflänzchen wurden dann immer Enchytraeiden seicht eingegraben. Man bemerkte bald das Abwelken der grünen Cotyledonen und endlich das Absterben des Pflanzenorganismus. Es sei hier bemerkt, daß nicht nur die infizierten Cylinder, sondern auch jene samt normaler Vegetation mit sterilisierter Nährlösung begossen wurden; diese war sehr verdünnt und zwar enthielt sie in 1 l sterilisirten Wassers  $\frac{1}{10000}$  des Molekulargewichtes einzelner Nährstoffe. Nach sorgfältiger Entnahme der zarten Vegetation konstatierte ich an den Wurzeln Enchytraeiden, welche mittels messerartiger Stachel in das

1) Diesen sandigen von Poděbrad stammenden Boden habe ich bereits bei meinen Versuchen „Ueber die Assimilation des elementaren Stickstoffes durch die Pflanzen“ benutzt. (Landw. Jahrbücher, 1895.)

Gewebe eingestochen waren. Es kann somit kein Zweifel darüber obwalten, daß der Inhalt der Zellen des Pflanzenorganismus für die Enchytraeiden ein Nährmaterial bildet.

An den Wurzeln waren auch entweder frisch beschädigte Epidermiszellen und Gefäßbündel, oder aus bereits abgestorbenem Protoplasma ausgeschiedenes dunkelviolettes Chromogen an der abgestorbenen Vegetation zu bemerken.

Die frisch beschädigten Pflänzchen zeigten keine anderen Parasiten, und war die Kultur der Zuckerrübe bei den Kontrollvegetationen ohne Enchytraeiden (ebenfalls in Cylindern mit sterilisiertem Boden) eine normale — somit waren es die Enchytraeiden, welche die Beschädigung des Organismus der Zuckerrübe herbeigeführt haben.

Den eben geschilderten Versuchen könnte man vielleicht vorhalten, daß die im sandigen Boden ohne organische Stoffe befindlichen Enchytraeiden des Hungers halber die Wurzeln der zarten Vegetation angegriffen haben; ich habe daher noch den folgenden Versuch unternommen.

Lehmboden aus der Umgebung von Libňoves, wo die Enchytraeiden stark verbreitet waren, wurde im Sterilisationsapparate mittels Dampfes sterilisiert.

In den Boden wurden sodann die in sterilisiertem Wasser abgewaschenen Knäulchen der Zuckerrübe und nach neuntägiger Vegetation auch die Enchytraeiden eingebracht. Die Keimpflänzchen starben bald ab, und zwar gingen von den 29 ausgekeimten gesunden Pflanzen nach der Ansteckung des Bodens mittels Enchytraeiden 16 Stück ein; es starben somit mehr als die Hälfte der Keimpflänzchen durch Einwirkung der Enchytraeiden.

Die Kontrollvegetationsversuche ohne Enchytraeiden wiesen während der Beobachtungszeit eine normale Entwicklung aus.

Durch die vorstehenden Vegetationsversuche wurde demnach sichergestellt, daß die Enchytraeiden in die Kategorie gefährlicher Parasiten der Zuckerrübe gehören.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Einwirkung des elektrischen Stromes auf Bakterien.

Von

**F. J. Møller**

in

**Zborowitz.**

Im Centralblatt für Bakteriologie (Bd. XX. No. 14/15) schreibt Dr. H. Friedenthal (München) über den Einfluß der Induktionselektrizität auf Bakterien. Er erwähnt die einschlägigen Arbeiten von Spilker und Gottstein, welche ein Absterben von Bakterien

im magnetischen Felde konstatiert hatten. Bei der von H. Friedenthal vorgenommenen Nachprüfung dieser Versuche konnte von ihm kein Absterben der Bakterien und überhaupt keine Beeinflussung derselben im magnetischen Felde konstatiert werden, was Herr Dr. Friedenthal im vorhinein schon apodiktisch behauptet hatte, da er es für unwahrscheinlich hält, daß der induzierte Strom eine andere Wirkung haben sollte, als der direkt einwirkende konstante Strom.

Im Gegensatz zu diesen Arbeiten haben d'Arsonval und Charrin Arbeiten veröffentlicht, in denen sie die Einwirkung des Stromes auf Bakterien nachgewiesen haben bei Ausschluß jeder elektrolytischen und Wärmewirkung. Die Versuchsanordnung von d'Arsonval und Charrin erzielte vollständig den Ausschluß dieser beiden Faktoren, jeder elektrolytischen und jeder Wärmewirkung, da in den Kulturen, die in die Spirale gelegt waren, durch die ein starker Strom kreist, jedenfalls Ströme induziert wurden, die dann auf die Lebensthätigkeit der Bakterien einwirkten.

Außer Spilker und Gottstein ist unterdessen auch von anderen Forschern eine schädigende Einwirkung durch den elektrischen Strom auf Bakterien nachzuweisen versucht worden, während Krüger (Zeitschrift für klin. Medizin. Bd. XXII) bei Ausschluß der elektrolytischen Wirkung ebenfalls weder bei starken noch bei schwachen Strömen einen Einfluß konstatieren konnte. Andererseits findet er, daß die elektrolytische Wirkung bei schwachen Strömen einen günstigen Einfluß auf die Bakterien hatte und erklärt sich diese Wirkung durch die Bildung von Ozonsäuren und Alkalien. Die Bildung dieser Antiseptica ist aber bei der Einwirkung von so schwachen Strömen eine so geringe, daß ein Einfluß durch dieselben allein wohl kaum zu bemerken gewesen wäre.

Da bei Benutzung von Wechselströmen eine elektrolytische Wirkung ausgeschlossen und trotzdem ein Einfluß auf das Wachstum und die Lebensthätigkeit der Bakterien konstatiert worden ist, so dürfte bei der Mehrzahl der bisher vorgenommenen Versuche, um diese Frage ins reine zu bringen, ein Zusammenwirken beider Faktoren stattgefunden haben. Nun werden sich die weiteren Forschungen dahin richten müssen, die Größe dieser beiden Koeffizienten festzustellen, bei nur teilweiser jeweiliger Ausschließung der elektrolytischen Wirkung und mit konstanter Kühlung zur Ausschließung des Wärmefaktors. Dies wird zwar nicht vollständig erreicht, worauf auch schon Friedenthal hingewiesen, da bei der Elektrode eine höhere Erwärmung eintritt, als an anderen Stellen der Kulturen. Nur bei Verwendung von sehr schwachen Strömen, wo sowohl die Wärmeentwicklung als auch die elektrolytische Wirkung zurücktritt gegenüber der Wirkung des Stromes selbst, läßt sich leichter konstatieren, wie weit dieselbe geht.

Haskins hat versucht, unter dem Mikroskope mittels seines elektrischen Schlittens die Einwirkung des Stromes zu beobachten.

Ich selbst versuchte die Einwirkung des Stromes unter dem Mikroskope in der feuchten Kammer zu beobachten; der Strom wurde durch eingeschmolzene feine Platindrähte eingeleitet. Als Stromquelle diente



eine konstante Batterie, zur Messung wurde ein Siemens'scher Torsionsgalvanometer verwendet.

Bei dieser Anordnung ließ sich aber die Einwirkung der Elektrolyse und Wärme extrem nicht ausschließen. Tatsächlich konnte eine Einwirkung auf verschiedene Kulturen beobachtet werden und bei Steigerung der Stromstärke und längerer Dauer der Einwirkung ein vollständiges Absterben. Als Färbemittel wurde bei diesen Versuchen Methylviolett und neutrale Indigo-Lösung benutzt.

Um weitere Resultate zu bekommen, und da die Versuche mit Rücksicht auf die Hefeführung in der Spiritusbrennerei zum Sterilisieren der Maischen gemacht wurden, wurden Milchsäurebakterien in einem sterilisierten Malzauszug ausgesät und die Zellenanzahl im Kubikcentimeter Nährlösung festgestellt. Angestellt wurden gleiche Mengen steriler Nährlösung in mit Wattebüschchen und mit Kappen verschlossenen 2 Kölbchen und mit Milchsäurebakterien infiziert. In das Kölbchen I wurden 2 Platinelektroden eingehängt und die Drähte durch die Wattebüschchen und doppelte Papierkappe durchgesteckt. Tatsächlich war nach 6 Stunden bei einer Temperatur von 20 Grad im elektrisierten Kölbchen eine bedeutend geringere Menge Zellen vorhanden als in den Kontrollkölbchen. Es wurden nunmehr eine Reihe von Pasteurkolben mit sterilisierter Nährlösung (Bierwürze) und einer Platinöse Hefezellen beschickt und bei steigenden Temperaturen vergären gelassen. Von den bei höheren Temperaturen vergorenen Würzen wurden wieder weitere mit Bierwürze gefüllte Pasteurkolben infiziert und unter Einleiten eines Stromes vergoren. Gleichzeitig wurde ein mit bei normaler Temperatur gezüchteter Hefe infizierter Kolben (No. II) elektrisiert. Benutzt wurde ein Strom von einer Stromdichte von 0,1 Amp. p. dm<sup>2</sup>. Es zeigte sich nun, daß die Würze im Kölbchen II weniger vollständig und rasch vergoren war, als im Kölbchen I. Folglich hatte die bei höherer Temperatur gezüchtete Hefe gegen den elektrischen Strom eine größere Widerstandskraft, als die bei niedriger Temperatur gezüchtete.

Im weiteren Verlaufe der Versuche wurde ein Kölbchen mit unter Einwirkung des Stromes gestandener Hefekultur infiziert, und es zeigte sich nun, daß ohne Schädigung der Hefekulturen die Stromstärke weiter successive gesteigert werden konnte bis zu einer Dichte per qdcm 0,24 A. Es fand also ein Acclimatisieren der Hefe an den Strom statt.

Malzauszug in 2 Pasteurkolben wird mit so erhaltenen Hefekulturen angesetzt und mit Milchsäurebakterien infiziert. In einem Kölbchen wird unter Einleiten eines Stromes, in anderen ohne solchen, vergoren. Von beiden Kolben wurde in eine Nährgelatine abgeimpft. In dem von der nicht elektrisierten Hefe abgeimpften Rohr trat schon nach kurzer Zeit Verflüssigung der Gelatine ein, während sich das andere weit länger hielt. Es sterben also durch die Einwirkung des Stromes die Milchsäurebakterien ab, während die Hefezellen intakt bleiben.

Weiter wurden 2 Getreidemalzextrakte hergestellt auf genau gleiche Weise und der eine während der Abkühlung von 70° auf 20° mit einem Strom von einer Dichte per qdcm 0,5 A. elektrisiert und dann direkt mit reiner Hefe eingestellt. Der zweite Teil des Malz-

anszuges wurde bis 70° gekühlt, wie gewöhnlich gesäuert und mit Hefe angesetzt. Der erste Ansatz war vollständig frei von Bakterien und gab bei vollständig normal verlaufender Gärung eine reine Hefe. Die Alkoholausbeute (65 Proz.) war auch eine größere, da er weiter (0,2 Bg) vergoren war als der Ansatz 2.

Dieses Verfahren in Verbindung mit Elektrisieren des Hefeansatzes ist Gegenstand eines Patentes und von Prof. Dr. Delbrück geprüft.

Hier tritt allerdings überall nicht der Strom allein in Wirksamkeit, sondern es ist sowohl die Elektrolyse (O-Bildung), als auch die Gärführung bei höherer Temperatur schuld an der reineren Gärung.

In der Praxis ist die Zusammenwirkung des elektrischen Stromes in seiner physiologischen und der Elektrolyse in ihrer chemischen Wirkung eine sehr vollkommene. Die eben beschriebenen Arbeiten wurden ziemlich zur gleichen Zeit, wie die von Effront mit Flußsäure vorgenommen, und gelang es auch, durch Akklimatisieren der Hefe an den elektrischen Strom die Kunsthefe ohne Säuerung zu führen.

Hiermit ist aber noch immer nicht die Frage nach der Größe der Wirkung des elektrischen Stromes allein, mit Ausschluß aller anderen Faktoren, gelöst. Um dieser Frage nahe zu kommen, wurden, da die elektrolytische Wirkung des Stromes schwer trennbar ist, einerseits die Kulturen mit dem elektrischen Strome behandelt, andererseits in den Parallelversuchen die Nährlösungen annähernd auf dieselbe Temperatur gebracht, die der elektrische Strom erzeugt, ein langsamer Strom von Sauerstoff eingeleitet und die Säurezunahme durch Abstumpfen mit Kreide verhindert.

Gleichzeitig wurden die bei den verschiedenen Parallelversuchen erhaltenen Hefekulturen auf ihren Stickstoffgehalt untersucht. Es fand sich nun, daß die unter sonst gleichen Umständen gezüchteten Hefekulturen keinen erheblichen Unterschied aufweisen, während die zu wiederholten Malen der Einwirkung des Stromes ausgesetzt gewesenen Hefekulturen um 1 Proz. höheren Stickstoffgehalt aufwiesen.

In weiterer Folge werden jetzt die Untersuchungen über die Wirkung des Wechselstromes fortgeführt. Daß die Frage über die Einwirkung des elektrischen Stromes auf Bakterienkulturen aber immer noch eine offene bleibt und bald positiv, bald negativ beantwortet wurde, trotzdem sich in den letzten Jahren so viele Forscher mit der Lösung der Frage beschäftigten, ist dem schweren Erkennen der Wirkungsgröße der einzelnen Faktoren zuzuschreiben, wird aber hoffentlich bald entgiltig geklärt sein.

Zborowitz, am 21. November 1896.

## Zusammenfassende Uebersichten.

*Nachdruck verboten.*

### Ueber das Chinosol.

Von

Dr. Franz Benecke.

(Schluß.)

Aus den soeben angestellten theoretischen Betrachtungen könnten wir auch folgern, daß dem Chinosol eine weniger giftige Eigenschaft als dem Oxychinaseptol zukommt. Diese Frage ist aber von viel zu hervorragender Wichtigkeit, als daß besondere Prüfungen darüber, ob das Chinosol nicht giftig resp. bis zu welchem Grade es giftig ist, unterlassen werden könnten. Die ersten Versuche nach dieser Richtung führte Rapp (16) im hygienischen Institute der Universität München aus. Einem (ca. 1500 g schweren) kleinen Kaninchen wurden 0,2 g Chinosol, in 10 g Wasser gelöst, subkutan eingeführt. „Das Tier blieb ganz munter und fraß.“ Bei einer Einführung per os hatte das nämliche Versuchstier<sup>1)</sup> innerhalb von drei Tagen 8,5 g Chinosol bekommen, und zwar am ersten Tage um 8 und 10 Uhr je 1 g auf 10 g Wasser, am zweiten zu denselben Zeiten 2 g auf 10 g und 1,5 g auf 7,5 g Wasser und am dritten Tage 3 g auf 15 g Wasser. Die Gesundheit des Tieres litt dabei in keiner Beziehung. Von Bergmann (5) wurde Kaninchen und weißen Mäusen Chinosol in Wasser gelöst injiziert, und zwar in Mengen bis zu 0,2 g auf einmal ohne jede Reaktion; jungen Hunden gab er mit gehacktem Fleische bis zu 5 g, „jedoch konnte irgendwelche die Gesundheit der Tiere beeinträchtigende Wirkung nicht wahrgenommen werden, nur der Harn zeigte den eigentümlichen Chinosolgeruch.“ Beddies und Tischer sprechen sich folgendermaßen aus: „Ein Kaninchen, 1200 g schwer, erhielt 0,6 g Chinosol in die Blutbahn injiziert, wurde bald darauf matt, dann nach 2 Stunden unruhig, zeigte nach 6 Stunden krampfartige Zuckungen, speziell in den Extremitäten, fraß 24 Stunden nicht, erholte sich dann und war nach einigen Tagen wieder gesund.“ „Einem Kaninchen, 1260 g schwer, wurde 0,1 g intravenös injiziert. Das Tier zeigte nach 6 Stunden ebenfalls etwas krankhafte Zustände, fraß aber und blieb gesund.“ — „Subkutan mit 0,3 g Chinosol injiziert, blieb ein anderes Kaninchen ohne sichtbare Reaktion.“ „Bis 4 g Chinosol konnten Kaninchen per os und durch Fütterung ohne merklichen Schaden eingeführt werden, wobei durch Sektion niemals Entzündung des Magens oder Darmes konstatiert wurde.“ — „Bei einem 400 g schweren Meerschweinchen erfolgte jedoch unter klonischen Gliederkrämpfen bei intraperitonealer Injektion von 3 g Chinosol nach

1) Aus der Mitteilung ist nicht deutlich zu entnehmen, ob hier dasselbe Kaninchen, was früher 0,2 g subkutan injiziert bekam, als Versuchstier diente; es muß aber wohl angenommen werden, weil sonst das Gewicht des zweiten Kaninchens wohl angegeben worden wäre.

14 Stunden der Tod.“ „Die Leber und Nieren des sezierten Tieres erschienen anormal körnig und entartet.“ — „Einem Meerschweinchen mit 250 g Gewicht schadete eine subkutane Gabe von 0,2 g nicht, während die gleiche Menge, 8 Tage später bei demselben Tiere intraperitoneal injiziert, Kranksein und Zuckungen der Extremitäten hervorrief, jedoch in Genesung auslief.“ — „Geringere Dosen als 1 : 20000 auf das Körpergewicht berechnet und in verschiedener Weise Tieren appliziert, blieben gänzlich wirkungslos.“ — „Ein erwachsener Mensch nahm Dosen von 0,2, 0,5, 0,75 und 1 g in Gelatine kapseln, ohne von Unwohlsein befallen zu werden.“ — „Versuche, Chinolinderivate im Urin der Versuchsobjekte nachzuweisen, fielen negativ aus, während in sezierten Tieren nach Aufnahme von größeren Chinosolmengen Oxychinolin im inneren Organismus leicht gefunden werden konnte.“ — „Durch diese Versuche ist die relative Ungiftigkeit des Chinosols bewiesen.“ Diesem Urteile kann man sich nur anschließen und man darf fernerhin behaupten, daß die Giftigkeit so gering ist, daß das Chinosol den Anforderungen, welche wir in dieser Beziehung an ein Antisepticum und Desinfektionsmittel stellen können, durchaus entspricht. Völlig außer Zweifel steht, daß das Chinosol vor den anderen gebräuchlichen derartigen Präparaten in einem sehr hohen Grade den Vorzug verdient.

Der Nachweis von Oxychinolin im inneren Organismus wurde von Beddies und Tischer bei besonderen Resorptionsversuchen an Tieren geliefert, woraus zugleich hervorging, daß die Magenschleimhaut Chinosol resorbieren muß.<sup>1</sup>

Wir wenden uns nun zur Beantwortung der Frage, was uns die bis heute vorliegende Litteratur über das Chinosol als Heilmittel bei bestimmten Krankheiten berichtet. Zunächst erwähne ich im Anschlusse an die Versuche von Beddies und Tischer über die Giftigkeit einen von ebendenselben angestellten Versuch über die Abschwächung der Virulenz pathogener Bakterien durch Chinosol. „Zwei mit virulentem Milzbrand geimpfte Mäuse starben innerhalb 24 Stunden, dagegen zwei andere, die mit durch Chinosol geschädigtem Milzbrandmaterial geimpft wurden, gingen erst am 3. bzw. 4. Tage an Milzbrand zu Grunde.“ Dieser Versuch zeigte, daß die Virulenz der Milzbrandbacillen, deren Entwicklung ca. 8 Tage durch Chinosol gehemmt wurde, „bedeutend abgeschwächt war“. Ein fernerer Versuch derselben Autoren hatte das Resultat, daß von zwei Meerschweinchen bei Impfung „mit gleichen Choleramengen“ das eine, welches Chinosol erhalten hatte<sup>1)</sup>, nach 40 Stunden starb, während das Kontrolltier bereits nach 16 Stunden tot war. Ein ebenso hohes Interesse bietet ein dritter Versuch, bei dem 5 Meerschweinchen mit Tetanus geimpft wurden, nachdem sie vorher entweder nur Toxin oder Chinosol allein oder Chinosol und Toxin erhalten hatten<sup>2)</sup>. Bei diesem Versuche konnte zwar Chinosol allein „keine völlige Immunisierung bewirken, aber, neben Tetanustoxin verwandt“, den Tod der Tiere verhindern, während selbst größere Mengen von Toxin allein „ungenügend

1) Morgens 0,1 g, mittags 0,2 g per os, {dann abends 0,01 g und am folgenden Morgen 0,02 g subkutan.

2) Toxin intraperitoneal, Chinosol subkutan.

waren zum Immunisieren und Inhibieren der Tetanusinfektion. Am markantesten<sup>1</sup> war der Versuch mit viel Chinosol und sehr wenig Toxin, wobei „völlige Immunität“ erreicht wurde.

Bei einer ganzen Reihe von Krankheiten hat sich das Chinosol bereits bewährt.

Kossmann (13) wandte in seiner Privat- und Poliklinik das Chinosol an Stelle von Sublimat und Karbolsäure an. Niemals ist in dieser Zeit eine Wundinfektion vorgekommen. „Ich kann“, sagt Kossmann, „erklären, daß ich keinerlei Intoxikationserscheinungen irgend welcher Art — auch keine Ekzeme — wahrgenommen habe, und daß das Präparat auch in Substanz, als Pulver, in secernierende Wunden eingestäubt, keine Aetzwirkung noch sonstige Reizung ausübte.“ Grunert (11) erzielte, selbst in komplizierten schweren Fällen, vorzügliche Erfolge in der zahnärztlichen Praxis und schreibt gleichzeitig dem Chinosol „eine stark schmerzstillende Wirkung“ zu. Rohrer (18) rühmt das Chinosol als Heilmittel bei Ohren- und Nasenkrankheiten. Bimmermann (6) empfiehlt es bei chronischen Blasenkatarrhen: „In einer 0,1-proz. Lösung wirkt es ohne die mindeste Reizung oder Schmerz ganz vorzüglich.“ Ostermann (15) hat in der gynäkologischen Praxis die besten Erfahrungen mit dem Chinosol gemacht und weist seine Ueberlegenheit den anderen Mitteln gegenüber nach. Viele Unglücksfälle in der geburtshilflichen Praxis werden nach ihm durch Anwendung des Chinosols unmöglich gemacht. Besonders betont Ostermann, wie wichtig es ist, daß ein so relativ ungiftiges Präparat in die Hand der Hebamme gelangt. In Bezug auf den Wert bei der Geburtshilfe resp. bei Krankheiten der weiblichen Genitalien lautet das Urteil von Bimmermann (a. a. O.) völlig gleich und Kossmann äußert sich in gleichem Sinne. — „Der vielseitig hohe klinische Wert des Heilmittels“ zeigte sich nach Beddies und Tischer bei Behandlung von frischen Wunden, Brandwunden und Eiterherden, gegen Gonorrhöe, in Fällen von Anthrax und Furunculus, in einem Falle von Parotitis, von Sykosis und von Dermatitis pustulosa. „Ganz besonders bieten die verschiedenen Ekzeme (Herpes, Wolf und Flechte, Psoriasis) Material für Chinosolbehandlung“; ferner wurde es mit bestem Erfolge angewandt bei hochgradiger Angina catarrhalis sowie Laryngitis, bei Affektionen der Nasenschleimhaut, auch ein Fall von Haarschwund heilte absolut<sup>2</sup> und ebenso ein Fall von Augenlidentzündung. Neben diesen Fällen war es für Beddies und Tischer überraschend, „daß die Heilkraft des Chinosols sich auch auf internere Gebiete anscheinend ganz bedeutend erstreckt.“ Es werden zwei Fälle von Influenza und mehrere von nervösem Kopfschmerz angeführt. Dabei wird der Erwartung Ausdruck gegeben, daß „Heilerfolge nach dieser Richtung, wo nicht nur die antiseptische, sondern speziell die antipyretische Wirkung des Chinosols zur Geltung kommt“, in Zukunft reichlich würden gemeldet werden.

Von allen genannten Autoren wird „das sehr große Permeabilitätsvermögen“<sup>1)</sup> gerühmt, das dem Chinosol infolge seiner Eigen-

1) Die hohe Diffusionsfähigkeit wurde (vgl. p. 115) von Beddies und Tischer nachgewiesen.

schaft, Eiweißstoffe nicht zu koagulieren, zukommt. Es dringt daher tief ein, wobei es den wirksamen Bestandteil des Chinosols, das o-Oxychinolin, überall abspaltet, und zwar nicht nur durch die alkalische Reaktion in den Geweben, sondern vermutlich stören auch noch andere, weit kompliziertere chemische Einwirkungen das so wie so sehr labile Gleichgewicht des Moleküls im Chinosol. Mit dieser so wertvollen Fähigkeit, die hochgradig wirksame o-Oxychinolingruppe mit Leichtigkeit im Innern der Gewebe abzuspalten, ist (wie bereits bei der Aufzählung der Eigenschaften des Chinosols gesagt wurde) das ebenso wertvolle Vermögen verbunden, in wässriger Lösung unbegrenzt haltbar zu sein.

Auch die tierärztliche Praxis hat (wie auch nicht anders zu erwarten war) bereits das Chinosol mit Erfolg angewandt. Möller (14) brauchte das Chinosol längere Zeit in seiner Klinik bei verschiedenen Tierkrankheiten, besonders bei Pferden und Hunden, und stellte dabei wiederum die große Ueberlegenheit des Chinosols anderen Mitteln gegenüber fest; es wird von ihm noch besonders hervorgehoben, daß das Chinosol bei Wiederkäuern, „die bekanntlich gegen Sublimat äußerst empfindlich sind, besondere Beachtung“ verdienen dürfte. In gleich anerkennenswerter Weise äußert sich Jensen (12), der dem Chinosol als Heilmittel in der tierärztlichen Praxis eine große Zukunft voraussagt. —

Wir haben noch in diesem Abschnitte der großen Bedeutung zu gedenken, welche dem Chinosol inbezug auf die Desinfektion der Hände, insbesondere der Hand des Arztes und der Hebamme von den verschiedensten Seiten zugesprochen wird. Mittelbar oder unmittelbar äußern sich (mit einer einzigen Ausnahme) alle unsere Autoren hierüber sehr günstig. Insbesondere hat sich Ostermann (15) mit dieser Frage beschäftigt. Er stellte 30 verschiedene Versuche an, bei denen die Hand von 4 Versuchspersonen mit „*Mesentericus*, *Pyocyaneus*, *Bacterium coli commune*, *Staphylococcus* und *Streptococcus*“ infiziert wurde, auch mit der sog. Tageshand wurden Versuche gemacht. Wurde auch nicht in allen Fällen eine vollständige Sterilisierung der Hand erreicht, so war doch stets „die antibakterielle Wirkung eine sehr deutliche“. Ausdrücklich aber betont Ostermann, das „hinsichtlich der Verwendung zur Handdesinfektion“ auch bei einem so guten Antisepticum, wie es das Chinosol ist, die Einschaltung einer Alkoholspülung oder Bürstung“ erforderlich ist. Er wie die übrigen sich hierüber äussernden Autoren (die Ausnahme wird gleich erwähnt werden) sind vollständig einig darin, daß das Chinosol allen anderen gebräuchlichen Desinfektionsmitteln aus sehr verschiedenen Gründen, die sich aus dessen Eigenschaften ableiten, unbedingt vorzuziehen ist.

Die Ausnahme macht Steenhuisen (20). Der erste Teil des Schlußsatzes seiner Abhandlung lautet in Uebersetzung: „Bei nur kurze Zeit andauernder Wirkung, z. B. bei Abwaschungen, verspricht vielleicht das neue Antisepticum wenig.“ Immerhin schiebt auch Steenhuisen das Wort „vielleicht“ ein. Es ist ja sehr zu beachten, daß zwar dem Chinosol eine außerordentlich entwicklungshemmende Wirkung zukommt, daß es aber (besonders nach Angabe von Steen-

haisen) schwer auf Bakterien abtötend wirkt<sup>1)</sup> und überdies Sporen dem Chinosol gegenüber wohl mindestens sehr widerstandsfähig sind. So beachtenswert diese Verhältnisse sind, so darf doch nicht außer acht gelassen werden, daß die Hand des Arztes nicht durch Chinosol allein sterilisiert werden soll, daß die rationelle Bürstung mit Seife u. s. w. vom Arzte auch niemals bei Anwendung anderer Desinfektionsmittel unterlassen werden darf und daß auf Grund ärztlicher Untersuchungen diese nicht sicherer als Chinosol wirken, aber dabei weit unangenehmer im Gebrauche sind. —

Wenn wir nun auch annehmen wollten, daß hier oder da von dem einen oder anderen Autor in Bezug auf die Heilkraft des Chinosols zu optimistische Meinungen geäußert worden sind, so scheint es mir doch heute schon zweifellos, daß der neu entdeckte Körper für die Heilkunde von außerordentlich großer Bedeutung ist. Gewiß sind viele weitere Prüfungen bereits im Gange und voraussichtlich wird speziell die medizinische Litteratur in kurzer Zeit gewaltig über diesen Gegenstand anschwellen.

Mit der soeben hervorgehobenen Eigenschaft des Chinosols, bei der Desinfektion der Hände vorzügliche Dienste zu leisten, haben wir bereits dasselbe als Vorbeugungsmittel gegen Krankheiten kennen gelernt. Trotzdem kaum  $1\frac{1}{2}$  Jahre seit der Entdeckung des Chinosols verflossen sind, ist doch bereits eine außerordentlich große Zahl von Chinosolpräparaten in den Handel gelangt, deren Anwendung den Zweck eines Präservativmittels verfolgt. Hier wird manches Produkt der Spekulation mehr oder weniger wertlos sein, aber wir dürfen wohl als sicher annehmen, daß dieses nicht für den größeren Teil Giltigkeit hat; von verschiedenen zuverlässigen Seiten (z. B. von Beddies und Tischer) ist eine große Zahl derartiger Produkte warm empfohlen worden. Um die Mannigfaltigkeit derselben zu kennzeichnen, führe ich kurz die folgenden an: flüssiges Chinosol für Desinfektion und Desodorisation von Droschkenhalteplätzen, Ställen, Klosetts u. s. w. Denselben Zwecken dient Chinosoldesinfektionspulver. Chinosolstreupulver gegen Schweiß u. s. w. Chinosolseifen (medizinische, Rasier-, Haushaltungs-, Toiletten- und Tierseife). Chinosolverbandstoffe (Watte, Gaze, Binden, Papier, Holzwolle). Chinosolpflaster (englisches Pflaster, Heftpflaster) und Chinosolcollodium. Chinosolsalben (Vaselin, Lanolin u. s. w.). Chinosolmundpillen, Chinosolmundwasser und Chinosolgurgelwasser; Zahnpulver, Zahnpasta; Haarwasser, Pomade; Puder u. s. w. Chinosolglycerin und Chinosolkakaoftifte. Chinosolsupposi-

---

1) Die Untersuchungen von Beddies und Tischer widersprechen übrigens diesen Angaben! (Vergl. II. Desinfektionsversuche. p. 115.) Hierbei möchte ich erwähnen, daß es mir scheint, man hat vielfach der alkalischen Reaktion der Nährböden nicht Rechnung getragen. Man muß unbedingt beachten, daß aller Wahrscheinlichkeit nach die große Wirkung des Chinosols auf das o-Oxychinolin in statu nascendi zurückzuführen ist. Wenn nun aber z. B. alkalische Nährbouillon angewandt wird, so wird sofort o-Oxychinolin abgespalten und die Chinosollösung hat nicht mehr die ursprüngliche Konzentration und infolgedessen kann man auch nicht die dieser zukommende Wirkung erwarten. Die hohe Abschwächung der Wirkung ist, wenn das Molekulargewicht berücksichtigt, leicht verständlich.

torien (bei Hämorrhoiden). Chinosolovale (Anticonceptions balls)  
u. s. w.

Im Anschlusse hieran möchte ich noch bemerken, daß (auf Veranlassung der Patentinhaber) in London bereits Versuche zur Straßenbesprengung gemacht wurden und daß ebensolche für Berlin geplant sind. Da, wo regelmäßige Sprengungen ausgeführt werden, würden bei dem Vermögen des Chinosols, selbst in äußerst schwachen Lösungen noch entwicklungshemmend auf pathogene Bakterien zu wirken, täglich nur stets geringfügige Mengen von Chinosol nötig sein, weil ja der Straßenstaub oder Straßenschmutz mit der Zeit einen stetig wachsenden Prozentgehalt an Chinosol besitzen würde. Bei Epidemien könnte das Chinosol schon auf diese Weise von ganz unschätzbarem Werte sein.

Man muß zugeben, daß das Chinosol als Desinfektions- und Desodorationsmittel, als Antisepticum und als Heilmittel für äußerliche und innerliche Krankheiten sowie endlich als allgemeines Hausmittel sehr viel verspricht. Der weite Rahmen der medizinischen und hygienischen Wissenschaft wird aber noch überschritten! Auch andere Wissenschaften, nämlich Zoologie und Botanik, werden Chinosol nach meiner Ansicht schätzen lernen.

„Während man früher glaubte und vielfach noch jetzt glaubt, daß die Fäulnis des Fleisches von innen heraus beginne, weiß man heute, daß dies bei Fleisch von einem gesunden Tiere nicht der Fall ist, daß vielmehr die Ursache der Fäulnis, die Bakterien, stets von außen eindringen. Nur das Fleisch kranker Tiere kann eine Ausnahme machen und in solchem Falle befanden sich schon im Innern des Fleisches Bakterien, ehe das Tier geschlachtet wurde. Diese Thatsachen sind durch die wissenschaftlichen Untersuchungen und Versuche von Prof. Dr. Emmerich auf das evidenteste bewiesen. Es ist klar, daß das bisher übliche Abwaschen der geschlachteten Tiere mit gewöhnlichem Wasser die Gefahr der Fäulnis von außen erhöht, indem außer den aus der Luft ohnehin schon abgesetzten Bakterien (auch die Berührung mit Händen und Instrumenten und anderes kommt in Betracht) überdies noch zahlreiche Wasserbakterien zunächst auf die Außenfläche des Tierkörpers gebracht werden, dann in das Fleisch eindringen, sich schnell ungeheuer vermehren und so die Fäulnis des Fleisches, zumal bei warmer Temperatur, bald herbeiführen.

„Diese Thatsachen führten dazu, mit Chinosol Fleischkonservierungsversuche zu machen, welche denn auch überraschend befriedigende Resultate gaben, indem halbe Tiere, welche nur mit wässriger Chinosollösung außen gründlich abgewaschen waren, mehrere Monate in warmer Sommertemperatur aufbewahrt werden konnten, ohne daß sich Spuren von Fäulnis zeigten.“

Diese Versuche, Fleisch vor Fäulnis zu schützen, werden gewiß für Anatomen und Zoologen von großer Wichtigkeit sein. Es scheint bis jetzt die Aufmerksamkeit auf diese Verwendbarkeit des Chinosols nicht gelenkt worden zu sein. Vielleicht führt meine kleine Abhand-



lung dazu, auch nach dieser Richtung mit dem Chinosol Versuche anzustellen<sup>1)</sup>).

Unzweifelhaft wird das Chinosol aber auch dem Botaniker Dienste leisten können. Ich selbst bin dieser Frage bereits näher getreten und gerade deshalb habe ich die Litteratur genau studiert und ist hierin die Veranlassung für diese Veröffentlichung zu suchen. Meine Untersuchungen sind keineswegs bereits ausgedehnte oder gar abgeschlossene, und kann ich darüber erst später berichten. Ich bin aber bereits heute überzeugt, daß bei einer ganzen Reihe in das botanische Gebiet schlagender Fragen Versuche mit Chinosol von Erfolg sein werden, in erster Linie natürlich überall da, wo wir es mit Bakterien und anderen niedrigen Lebewesen zu thun haben<sup>2)</sup>).

Nicht aber nur für Medizin und Hygiene, nicht nur für Botanik und Zoologie kann das Chinosol einen mehr oder weniger außerordentlich hohen Wert erlangen, sondern indirekt auch noch für manche andere Wissenschaft. Ich denke dabei besonders an unsere Forschungsreisenden! Ich glaube mich keinen Illusionen hinzugeben, wenn ich hoffe, daß das Leben unserer Forscher in unbekannten Weltgegenden durch die Entdeckung des Chinosols weniger gefährdet und weniger dornenvoll sein wird. Bei solchen Reisen handelt es sich ja nicht nur um Bereicherung unserer medizinischen oder naturwissenschaftlichen Kenntnisse, sondern auch neben anderem um Länder- und Völkerkunde im weitesten Sinne des Wortes! Und was für unsere Reisenden gilt, gilt auch für alle, die gezwungen oder freiwillig in einem mörderischen Klima leben; außer Frage scheint mir zu stehen, daß das Chinosol ganz im allgemeinen den Bewohnern subtropischer und tropischer Länder, also da, wo viele gefährliche ansteckende Krankheiten ihre Heimat haben, hochwillkommen sein muß. Ich halte es für überflüssig, den Wert eines solchen Präparates gerade für ungesunde, unwirtliche und heiße Gegenden näher auszumalen; er ergibt sich aus der ganzen Darstellung, welche ich im wesentlichen auf Grund der vorliegenden Litteratur gegeben habe.

Und so können wir denn mit einiger Berechtigung ein von den Patentinhabern gebrauchtes Wort wiederholen, indem wir hoffnungsvoll aussprechen: „Das von Dr. Josef Ziegler entdeckte Chinosol verspricht wirklich ein Talisman zu werden!“

Hamburg, 13. Nov. 1896.

---

1) Es möge hier eine gelegentliche Beobachtung erwähnt werden. Bei zu einem anderen Zwecke angestellten Versuchen fand ich Chinosollösungen von 1 : 100 000 selbst nach mehreren Wochen frei von Infusorien, während das Kontrollwasser massenhaft Infusorien enthielt. In beiden Fällen war die Lösung bezw. das Wasser durch Bakterien stark getrübt.

2) Nach einer mir privatim gemachten Mitteilung sollen wir den Hausschwamm, eins der Schmerzenskinder der Phytopathologen, durch Chinosol erfolgreich bekämpfen können.

## Referate.

Grüss, J., Ueber Lösung und Bildung der aus Hemicellulose bestehenden Zellwände und ihre Beziehung zur Gummosis. (Bibliotheca Botanica. 1896. Heft 39. 13 p. Mit 1 Tafel.)

Der Verf. beschäftigt sich zunächst mit den Wandverdickungen des Dattelendosperms, das nach Reis und E. Schulze Mannan und Galactan enthält. Er untersucht jugendliche Entwicklungszustände des Samens und findet, daß das Gewebe zur Zeit der Ausbildung der Verdickungsschichten Fehling'sche Lösung reduziert und mit Phenylhydrazin einige Kryställchen absetzt, welche er für das in Wasser schwer lösliche Hydrazon der Mannose erklärt. Aus dieser und der weiteren Thatsache, daß sich zu dieser Zeit die Zellwände mit einer alkalischen Alizarinlösung nicht färben, während sie im ausgebildeten Zustande damit eine violette Färbung annehmen, schließt der Verf., daß die Wandverdickungen anfangs nur aus Mannan gebildet werden, in welches erst später Galactan eingelagert wird, und daß nur letzteres durch Alizarin färbbar ist. Bei der Einwirkung diastatischer Enzyme wird dann umgekehrt zuerst das Galactan herausgelöst und dadurch die vom Verf. schon früher beschriebene „hyaline Randzone“ gebildet, die sich nicht durch Alizarin, wohl aber durch Kongorot färben läßt. Das zurückbleibende Mannan löst sich erst später. Die Färbbarkeit durch Kongorot schreibt der Verf. dem Enzymgehalt der hyalinen Zone zu. Ähnliche Verhältnisse finden sich bei *Tropaeolum*, das nur kurz behandelt wird. Im Endosperm der Gerste färben sich die unveränderten Zellwände sowohl durch Alizarin als auch durch Kongorot, die durch Diastase angegriffenen aber durch keines von beiden. (Dies stimmt mit der Annahme, daß die Kongofärbung vom Enzymgehalt herrühre, nicht überein!) Das Maisendosperm verhält sich gegen Kongorot wie das Dattelendosperm. Der Verf. äußert die Ansicht, daß Araban und Galactan mit Alkali und Alizarin stets violett gefärbt wird und findet eine Stütze dafür in dem Verhalten der Zellwände in der Samenschale der Ackerbohne und den Keimblättern der gelben Lupine zu Alizarin, in denen nach E. Schulze Galactan vorkommt. Er sucht hierauf darzuthun, daß bei *Astragalus*-, *Prunus*- und *Acacia*-Arten Araban und Galactan oder die ihnen entsprechenden Gummiarten, die er Arabin und Galactin nennt, die Rolle von Vorratsstoffen spielen. Für diesen Teil der Arbeit fehlt jedoch die makrochemische Grundlage. Er stützt sich fast nur auf die Alizarinfärbung. Das Verhalten anderer Substanzen zu Alizarin wurde aber nicht untersucht. In der ruhenden Wurzel einer ausdauernden *Astragalus*-Art enthalten die Markstrahlzellen Inhaltsmassen, die sich mit Alizarin färben. Beim Austreiben der Wurzel schwinden sie, der Färbung nach zu urteilen, größtenteils oder völlig. Zuckerbildung ist dabei nicht nachweisbar, ein Enzym ist aber vorhanden.

Den Beweis dafür, daß diese Inhaltsmassen aus „Arabin-Galactin“ bestehen (der färbbare Wandbestandteil der Dattel ist nach dem Verf. Galactan!) sieht der Verf. darin, daß Schnitte durch die Wurzel nach dem Kochen mit einer „halb verdünnten“ Salzsäure Fehling'sche Lösung reduzieren und im Markstrahlgewebe nur noch eine sehr schwache Alizarinfärbung geben. In Holz und Rinde dieser Wurzel finden sich viele Zellen mit sekundären Verdickungsschichten, die beim Austreiben der Wurzel gelöst werden, also Vorratsstoffe sind. Alizarin färbt diese Schichten zunächst schwach, bei der Lösung stärker. Der Verf. erklärt daher, daß sie aus Arabin-Galactan zusammengesetzt sind und bei der Lösung Arabin-Galactin geben. (Bei der Dattel wird die Färbung dem Galactan zugeschrieben, ihr Schwinden seiner Lösung!) In ganz ähnlicher Weise zeigt der Verf. mit Hilfe der Alizarinfärbung, daß die Verdickungsschichten der Libriformzellen von *Acacia arabica* Vorratsstoffe sind, die beim Austreiben gelöst werden und daß die Gefäße dieser Pflanze Gummimassen enthalten, die hierbei in die Markstrahlen auswandern, welche vordem gummifrei waren. Ferner findet er in den Samen von *Astragalus hamosus* und *Acacia subulata* Zellen mit Inhaltsmassen, die sich durch Alizarin färben und daher ebenfalls als abgelagerte Hemicellulosen bezeichnet werden. Auch in den Holzzellen von *Prunus cerasus* wird die innerste Schicht beim Austreiben gelöst. Der Verf. ist der Meinung, daß sie aus Arabin oder Galactan oder einem Gemenge beider besteht, da sie beim Färben mit Fuchsin ungefärbt bleibt. In einjährigen Äesten von *Prunus avium* wurde mittels Alizarins nur in den Markstrahlzellen und vielen Zellen der äußeren Rinde „Gummi“ als Inhaltsstoff nachgewiesen, während im Libriform keine löslichen Verdickungsschichten vorkommen. Solche wurden aber bei *Robinia pseudacacia*, *Sarothamnus scoparius*, *Caragana arborescens* u. A. gefunden. In allen diesen Fällen sind die betreffenden Hemicellulosen Vorratsstoffe, die wieder in den Stoffwechsel zurückkehren. Ihre Beziehung zur Gummosis wird nur kurz herührt. Der Verf. äußert die Ansicht, daß durch Vermittelung von Sauerstoffüberträgern eine Oxydation eintritt, durch welche die Aldehydgruppe in die Karboxylgruppe übergeht und so Arabin- und Galactinsäure, also ein Gummi, entsteht. — Die Tafel stellt mit Alizarin behandelte Schnitte dar, welche Vorkommen, Bildung und Lösung der Hemicellulosen erläutern.

Friedr. Reinitzer (Graz).

**Forti, Cesare, Relazione sugli studi zimotecnici. I. Relazione intorno agli esperimenti di centrifugazione di mosti d'uva e di vinificazione con aggiunta di fermenti coltivati, eseguito presso la fondazione per l'istruzione agraria in Perugia. II. Relazione degli studi fatti sui fermenti di vini nel Laboratorio Zimotecnico annesso alla fondazione per l'istruzione agraria in Perugia. (Bollettino di Notizie agrarie. Anno XVIII. 1896. No. 37. p. 363 ff.)**

In der ersten Abhandlung teilt Verf. das Resultat einer Versuchs-

reihe mit, welche mit Centrifugierung von Traubenmost, teils um chemische Verunreinigungen, teils um Mikroorganismen zu beseitigen, angestellt wurde. Es gelang Verf. nicht, durch eine einzelne Behandlung mit der Centrifuge den Most vollkommen steril zu bekommen; erst nachdem er diese Behandlung zwei- oder dreimal wiederholt hatte, wurde der Most bisweilen steril. Das nach einer einzelnen Centrifugierung erhaltene Resultat war indessen bei weitem kein schlechtes, indem 72—76 Proz. der Mikroorganismen beseitigt wurden und nach der dritten Centrifugierung ca. 90 Proz. Die vom Verf. benutzte Centrifuge war von Bergh's Konstruktion und aus Burmeister & Wain's Fabriken in Kopenhagen.

Der zentrifugierte Most war viel leichter als der gewöhnliche zu filtrieren. Verf. brauchte einen Entzinger-Filter und er gelangte zu dem merkwürdigen Resultate, daß der zentrifugierte und danach filtrierte Most in beinahe allen Fällen steril war. Von den übrigen Ergebnissen des Verf.'s können die folgenden hervorgehoben werden:

Die Centrifugierung war wirksamer in Betreff des gärenden als des frischen Mostes. Die Einwirkung der Centrifugierung auf die chemischen Stoffe wurde nicht hinlänglich studiert. Eine bedeutsame Verminderung der Menge der unlöslichen Stoffe wurde beobachtet. Die Zusammensetzung des zentrifugierten Mostes wurde nicht in der Art geändert, daß die Vermehrungs- und Gärungsenergie der Hefe vermindert wurde. Der zentrifugierte Most wurde dagegen immer regelmäßiger als der gewöhnliche Most vergoren; ebenso waren auch die daraus hergestellten Weine, selbst ohne Hefezusatz, besser als die aus gewöhnlichem Moste hergestellten.

Verf. bespricht ferner zahlreiche Versuche im Betriebe, sowohl mit Centrifugierung von Most ohne Hefezusatz, als mit Zusatz reingezüchteter Hefe, teils zu zentrifugiertem, teils zu gewöhnlichem Most, ferner teils zu Most, welcher noch nicht zu gären angefangen war, und teils zu in mehr oder weniger weit vorgeschrittener Gärung begriffenem Moste. Namentlich die mit Zugabe reingezüchteter Hefe angestellten Versuche gaben gute Resultate, sowohl wenn der Most zentrifugiert war, als nicht. Wein, der noch Zucker enthielt und „agrodolce“ zu werden angefangen war, wurde durch Zusatz einer ausgewählten Heferasse auf diese Weise wieder gut und verkäuflich. Dagegen konnten durch Centrifugierung allein kranke Weine sich zwar längere Zeit als sonst halten, wurden aber nicht geheilt. Verf. spricht seine Meinung dahin aus, daß ein Zusatz einer ausgewählten Heferasse von größerer Bedeutung ist, wenn ein zentrifugierter als wenn ein gewöhnlicher Most, wenn ein weißer als wenn ein roter Most angewandt wird. Ferner hebt er hervor, daß die Nachgärung in den noch Zucker enthaltenden Weinen im Frühjahr durch Zugabe einer guten Hefe zu regulieren ist, und daß die besonderen Eigentümlichkeiten der Hefe nicht immer auf dieselbe Weise erscheinen, sondern in wesentlichem Grade von der Beschaffenheit des Mostes abhängig sind. Man muß deshalb für jeden Mosttypus eine passende Heferasse auswählen; zu diesem Zwecke werden aber notwendigerweise Gärungsversuche gefordert.

In der zweiten Abhandlung teilt Verf. einige Untersuchungen

mit, welche er über die Differentialcharaktere der verschiedenen Weinhefeformen angestellt hat. Diese Charaktere hat er durch Gärungsversuche ausfindig zu machen versucht. So hat er mit Zusatz verschiedener Mengen von Zucker oder Säure, mit verschiedenen Typen von gewöhnlichem Most, mit verschiedenen Temperaturen, Kohlenhydraten, stickstoffhaltigen Körpern, Antiseptica, nebst verschiedenen Weinen, welche noch unvergorenen Zucker enthielten, Versuche angestellt. Die in Betracht gezogenen Charaktere waren die folgenden: Das makroskopische Aussehen der gärenden Flüssigkeiten, die Gärungs- und die Vermehrungskraft der Hefe, die Askosporenbildung und verschiedene andere physiologisch-morphologische Eigentümlichkeiten. Ohne näher auf die Einzelheiten dieser Versuche einzugehen, will Ref. nur hervorheben, daß Verf. dem Aussehen der Gelatinekulturen keinen Wert als Differentialcharakter der verschiedenen Hefeformen zukommen läßt.

Zuletzt erwähnt Verf., daß er im Wein eine *Monilia* und eine kleine *Mycoderma*, welche eine gute Hefe schädlich beeinflussen können, gefunden hat. Klöcker (Kopenhagen).

### Corrigendum.

In No. 2/3 dies. Centralbl. p. 73. letzte Zeile ist anstatt *Artes* „Chemikers“ zu lesen.

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoen. Unter Mitwirkg. v. Fachgenossen bearb. u. hrsg. v. P. v. Baumgarten u. F. Tangl. Jahrg. X. 1894. gr. 8°. X, 846 p. Braunschweig (Harald Bruhn) 1896. 21 M.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Choquet, La photomicrographie histologique et bactériologique. 8°. Paris (Ch. Mendel) 1896. 6 fr.

Hieroclé, Ch. X., Studien zur Frage der Beeinflussung der Färbbarkeit von Bakterienmaterial durch vorübergehende Einwirkung bakterienschädigender Momente. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVIII. 1897. Heft 2. p. 163—183.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

Baccarini, P. e Scalia, G., Appunti per la conoscenza di due acarocidii. (Estr. d. Nuovo Giorn. bot. ital. 1896.) 8°. 13 p.f

- Beck, M. u. Schultz, P., Ueber die Einwirkung sog. monochromatischen Lichtes auf die Bakterienentwicklung. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXIII. 1896. Heft 3. p. 490—496.)
- Brown, A. J., *Bacillus subtilis*. (Journ. fed. Inst. brewing. T. I. 1895. p. 423—426.)
- Buscalloni, L., *Il saccharomyces guttulatus* Rob. (Malpighia. 1896. Fasc. 5/7. p. 281.)
- Emmerling, O., Beitrag zur Kenntniss der Eiweißfäulnis. (Berichte d. dtsh. chem. Gesellsch. 1896. No. 17. p. 2721—2726.)
- —, Ueber einen neuen aus Glycerin Buttersäure erzeugenden *Bacillus*. (Berichte d. dtsh. chem. Gesellsch. 1896. No. 17. p. 2726—2727.)
- Hempel, A., Protozoa of Illinois. (Bulet. Illinois State Laboratory. 1896. p. 313—316.)
- Horn, M. E. C., The organs of attachment in *Botrytis vulgaris*. (Botan. Gaz. Vol. XXII. 1896. p. 329—333.)
- Kayser, E., Les levures: caractères morphologiques et physiologiques, applications des levures sélectionnées. 200 p. avec fig. Paris (Masson) 1896. 2,50 fr.
- Kedzier, Ueber eine thermophile *Cladothrix*. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 4. p. 328—338.)
- Lindner, P., Das Vorkommen von Amöben im Gärungsbetriebe. (Webschr. f. Brauerei. 1896. No. 47. p. 1231.)
- Lohmann, W., Ueber den Einfluß des intensiven Lichtes auf die Zellteilung bei *Saccharomyces cerevisiae* und anderen Hefen. [Inaug.-Diss.] Rostock 1896.
- Michal, A., Sur l'origine du bourgeon de régénération caudale chez les annélides. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 23. p. 1015—1017.)
- Niehols, M. A., The morphology and development of certain pyrenomycetous fungi. (Botan. Gaz. Vol. XXII. 1896. p. 301—328.)
- Riedel, M., Gallen und Gallwespen. Naturgeschichte der in Deutschland vorkommenden Wespengallen und ihrer Erzeuger. (Sep.-Abdr. aus Heimat. Bd. IX. 1896.) 8°. 75 p. 5 Taf.
- Seelig, P., Ueber den Einfluß des Milchezuckers auf die bakterielle Eiweißzersetzung. (Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. Bd. CXLVI. 1897. Heft 1. p. 53—64.)
- Sutton, J., Erfahrung mit Milchsäure-Reinkultur. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1896. No. 48. p. 386—387.)
- Tassi, Fl., Specie nuove di micromiceti (4. contribuzione). (Atti d. r. accad. dei fisio-critici. ser. 4. Vol. VIII. 1896.)
- Thiele, E., Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze in verschiedenen Nährlösungen. [Inaug.-Diss.] 8°. 37 p. Leipsig 1896.
- Tognini, F., Sopra un micromicete nuovo, probabile causa di malattia nel frumento. (Rendiconti del R. Ist. Lomb. di scienze e lett. ser. II. Vol. XXIX. Milano 1896.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft und Wasser.

- Defontaine, L., L'eau du lac de Genève à Paris. (Gaz. d. hôpit. 1896. No. 115. p. 1133—1135.)
- Eymard, L. et Gavin, M., Les eaux de Versailles. (Rev. d'hygiène. 1896. No. 8, 9. p. 676—698, 820—831.)
- Flinn, E., Remarks on rural water supplies in Ireland. (Dublin Journ. of med. science. 1896. Aug. p. 110—114.)
- Frankland, P. F., The London water-supply and its bacterial contents. (Lancet. Vol. II. 1896. No. 20. p. 1414—1415.)
- Holz, Das Trinkwasser von Metz und Umgebung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVIII. 1897. Heft 3. p. 103—137.)
- Jegunow, M., Bakterien-Gesellschaften. Eigenheiten der Schwefelbakterien der Fontainenplatte. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. II. Abt. 1896. No. 23/24. p. 739—752.)
- Lacour et Gavin, Les eaux de Versailles, leur qualité et leur quantité. (Annal. d'hygiène publ. Vol. II. 1896. No. 3. p. 255—264.)

Wittlin, J., Examen bactériologique des eaux thermales de Baden (Suisse). (Annal. de microgr. 1896. No. 9. p. 381—384.)

### Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

#### Fleisch.

Bericht über die städtische Fleischschau in Berlin für das Jahr 1894/95. Verwaltungsbericht No. 31. (Gemeindebl. 1896. No. 3. Beil.)

Goltz, Zur Muskelauswahl für die Trichinenschau. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1896/97. Heft 1. p. 1—4.)

Hamburger, H. J., Bijdrage tot de bacteriologie der vleeschvergiftiging. Bacillus cellulaformans. (Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. Bd. II. 1896. No. 5. p. 161—165.)

Kieckhäfer, Zur Differentialdiagnose der Rinderfinnen. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1896/97. Heft 1. p. 9—10.)

Leistikow, Ueber Zweck und Nutzen der Fleischschau. (Verhandl. u. Mitteil. d. Ver. f. ö. Gesundheitspf. in Magdeburg. 1896. p. 112—113.)

Ostertag, Ueber das Vorkommen der Rinderfinnen und die Verwertung des Fleisches der finnigen Rinder in den größeren norddeutschen Schlachthöfen. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1896. Heft 6, 8, 12. p. 103—107, 143—149, 227—230.)

Rohr, Zum Kapitel der Rinderfinnen. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1896/97. Heft 1. p. 10.)

Uebersicht über das Vorkommen und die sanitätspolizeiliche Behandlung tuberkulöser Schlachtthiere in den öffentlichen Schlachthöfen Bayerns im Jahre 1895. 8°. 23 p. Sep.-Abdr.

#### Milch, Molkerei.

Caprara, P., Il latte come veicolo dello pneumococco. (Riforma med. 1896. No. 187, 188. p. 434—437, 447—450.)

Eottig, P., Ueber den Wert der bakteriologischen Milchuntersuchung. [Inaug.-Diss.] 8°. 22 p. Halle 1896.

#### Wein, Weinbereitung.

Konservierung, die, der Weine durch Abkühlen. (Allg. Wein-Ztg. 1896. No. 47. p. 464—465.)

### Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Renault, B., Les bactériacées de la houille. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 22. p. 953—955.)

Vaughan, V. C. u. Perkins, G. D., Ein in Eiscrème und Käse gefundener giftproduzierender Bacillus. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 4. p. 308—327.)

#### Straßen.

Wittlin, J., De l'action de l'arrosage sur la teneur en germes des poussières des rues. (Annal. de microgr. 1896. No. 10. p. 401—414.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

#### Harmlose Bakterien und Parasiten.

Naudin, Ch., Nouvelles recherches sur les tubercules des légumineuses. (Compt. rend. de l'acad. d. sciences. T. CXXIII. 1896. No. 18. p. 666—671.)

#### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Baccarini, P., Intorno ad una malattia della palma da datteri. (Estr. d. Bull. <sup>ett. d. soc.</sup> bot. ital. 1895.) 8°. 9 p.

Boas, J. E. V., Dansk forstzoologi. 3. hæfte. 8°. 32 p. Kopenhagen (Nord. forlag) 1896. 65 ere.

- Cuboni, G.**, Per quali cause le piante coltivate siano danneggiate gravemente da malattie che, fino a qualche decennio fuerano completamente sconosciute in Europa. (Stazioni sperim. agrar. ital. Vol. XXIX. Modena 1896. p. 101—116.)
- Dervin, G.**, Six semaines en pays phylloxérés. Etude sur la défense et la reconstitution des vignobles français atteints du phylloxéra, suivie de la Champagne avant l'invasion phylloxérique. 8°. 366 p. Reims (Impr. Dubois-Poplimont) 1896. 3,50 fr.
- Glaser, L.**, Ueber Blattläuse, deren Feinde und Bekämpfung. (Zeitschr. f. d. landwirtsch. Vereine d. Großh. Hessen. 1896. No. 49. p. 420—421.)
- Insects, injurious, and fungi.** — Insects in the spring and summer of 1896. The „army worm“ (*Leucania unipunctata*). The woolly aphid or American blight (*Schizoneura lanigera*). The corn moth (*Sitotroga* [*Gelechea*] *cerealella*). A lily disease (*Polyactis* [*Botrytis*] *cana*). A disease of snowdrops. The narcissus fly (*Merodon narcissi* [*claviceps*?]). The smut of brome grass (*Ustilago bromivora*, Fischer de Waldheim). The hop mildew (*Podosphaera castagnei*). (Journ. of the Board of agricult., London 1896. No. 3. p. 273—293.)
- L. E.**, Le traitement contre la chlorose. (Vigne franç. 1896. No. 20. p. 305—307.)
- Lavergne, G.**, Le congrès du black-rot de Bordeaux. (Rev. de viticulture. 1896. No. 157. p. 604—609.)
- Lodsman, E. G.**, The spraying of plants. 12°. 399 p. New York (Macmillan & Co.) 1896.
- Luberg**, Ueber Kainit als Mittel zur wirksamen Bekämpfung tierischer Schädlinge. (Illustr. landwirtsch. Ztg. 1896. No. 92. p. 716.)
- Massalonge, C.**, Sul dimorfismo di natura parassitaria dei fiori di *Convolvulus arvensis*. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. p. 11—13.)
- Minà Palumbo**, Note di entomologia agraria. (Bullett. di entomol. agrar. e patol. veget. Anno III. 1896. p. 53—56.)
- Nowak, J.**, Bericht über eine Anzahl durch Insekten in Kanada im Jahre 1894 hervorgerufene Schädigungen von Kulturpflanzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 5. p. 275—277.)
- Prillieux, E.**, Rhizoctonia. (Bullett. de la soc. botan. de France. T. XLIII. 1896. p. 9—11.)
- Reblausbekämpfung in Hessen.** Ausschreiben des Ministeriums des Innern und der Justiz vom 27. Juni 1896 nebst Verordnungsentwurf. (Zeitschr. f. d. landwirtsch. Vereine d. Großh. Hessen. 1896. No. 49. p. 421—422.)
- Roze, E.**, Observations sur le rhizoctone de la pomme de terre. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 23. p. 1014—1019.)
- Sajó, K.**, Die Verbreitung der San-José-Schildlaus. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 5. p. 306—310.)
- Sarauw, G. F. L.**, Mycorrhiza. (Bot. Tidsskr. 1896. No. 18. p. 197—259.)
- Schildkäfer, der** (*Cassida nebulosa*). (Illustr. landwirtsch. Ztg. 1896. No. 91. p. 708.)
- Schmidt-Göbel, H. M.**, Die schädlichen und nützlichen Insekten in Forst, Feld und Garten. Neue (Umschlag-)Ausg. qu. gr. Fol. 14 farb. Taf. Wien (Pichler's Wwe. & Sohn) 1896. In Mappe 10 M.
- , Dasselbe. Text. 2 Abteilgn. u. Suppl. Neue (Titel-)Ausg. 1. Die schädlichen Forstinsekten. VII, 119 p. m. 9 Abbildgn. 1,20 M. — 2. Die schädlichen Insekten des Land- und Gartenbaues. I. Abt.: Die schädlichen Insekten im Obst-, Küchen- und Blumengarten, sowie im Glashaus und Weinberg. II. Abt.: Die schädlichen Insekten in Feld, Wiese und Hopfengarten. VIII, 296 p. m. 13 Abbildgn. 1,40 M. — Suppl.: Die nützlichen Insekten, die Feinde der schädlichen. 52 p. m. 1 Abbildg. 0,80 M. gr. 8°. Wien (Pichler's Wwe. & Sohn) 1896. 3,40 M.
- , Die schädlichen Insekten des Land- und Gartenbaues. Neue (Umschlag-)Ausg. qu. gr. Fol. 6 farb. Taf. Wien (Pichler's Wwe. & Sohn) 1896. In Mappe 3,60 M.
- Smith, E. F.**, A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato. (*Bacillus solanacearum* n. sp.) (U. S. Departm. of agricult. Divis. of veget. physiol. and pathol. Bullet. No. 12.) 8°. 26 p. m. 2 Taf. Washington 1896.



- Steingruber, A.**, Studie über die Möglichkeit der Wiederherstellung der durch die Reblaus zerstörten Weingärten und die zu ihrer Erhaltung dienenden Verteidigungsmittel. gr. 8°. 48 p. m. Abbildgn. Wien. Austria (Franz Doll) 1896. 1,25 M.
- Strohmer, F.**, Ueber die Bekämpfung der Nematodenkrankheit der Zuckerrübe mittels des Willot'schen Verfahrens. (Mittell. d. chem-techn. Versuchstat. d. Centralver. f. Rübenzuckerindustrie in der österr.-ungar. Monarchie. 1896. No. 85.) 8°.
- Thomas, Fr.**, Die rotköpfige Springwanze, *Halticus saltator* Geoffr., ein neuer Feind der Mistbeetpflanzen, besonders der Gurken. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 5. p. 270—275.)
- Versuche, vergleichende, zur Bekämpfung der Blattfallkrankheit der Weinstöcke. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1896. No. 99. p. 883.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Beyer, Th.**, Ueber Wäschedesinfektion mit dreiprozentigen Schmierseifenlösungen und mit Kalkwasser. [Inaug.-Diss.] 8°. 39 p. Leipzig 1896.
- Tanret, C.**, Action du nitrate d'ammoniaque sur l'*Aspergillus*. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 22. p. 948—950.)

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.

- v. Freudenreich, Ed.**, Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir. (Orig.) [Forts.], p. 87.
- Hartleb, B. u. Stutzer, A.**, Das Vorkommen von *Bacillus pseudanthracis* im Fleischfuttermehl. (Orig.), p. 81.
- Möller, J.**, Ueber die Einwirkung des elektrischen Stromes auf Bakterien. (Orig.), p. 110.
- Stoklasa, Jul.**, Sind die Enchytraeiden Parasiten der Zuckerrübe? (Orig.), p. 108.
- Wehmer, C.**, Kleinere mykologische Mitteilungen. (Orig.), p. 102.
- Wortmann, Julius**, Ueber Säureabnahme im Wein. (Orig.), p. 96.

### Zusammenfassende Uebersichten.

- Benecke, Frans**, Ueber das Chinosol. (Orig.) [Schluß], p. 114.

### Referate.

- Forti, Cesare**, Relazione sugli studi zimotecnici. I. Relazione intorno agli esperimenti di centrifugazione di mosti d'uva e di vinificazione con aggiunta di fermenti coltivati, eseguito presso la fondazione per l'istruzione agraria in Perugia. II. Relazione degli studi fatti sui fermenti di vini nel Laboratorio Zimotecnico annesso alla fondazione per l'istruzione agraria in Perugia, p. 122.
- Grüss, J.**, Ueber Lösung und Bildung der aus Hemicellulose bestehenden Zellwände und ihre Beziehung zur Gummosis, p. 121.

Corrigendum, p. 124.

Neue Litteratur, p. 124.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie und  
Pflanzenpathologie.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Willfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg  
herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 20. März 1897.**

**No. 6.**

---

Jährlich erscheinen 36 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

*Die Redaktion des „Centralblattes für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## **Original - Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Das Vorkommen von *Bacillus pseudanthracis* im Fleischfuttermehl.**

Von

**R. Hartleb und A. Stutzer<sup>1)</sup>.**

(Fortsetzung.)

Das Verhalten der Bakterien in diesen erneuerten Nährlösungen gegen Blut war das gleiche, wie wir früher angaben; dasselbe gilt auch in Bezug auf die Trübung der Bouillon. Nachdem so die anaëroben Züchtungen nach regelmäßigen Uebertragungen einen Monat

lang durchgeführt waren, hielten wir es für geraten, nochmals zu Tierversuchen zu schreiten. Selbstverständlich überzeugten wir uns zuvor von der Reinheit der Bakterien, indem wir Uebertragungen auf schwach alkalischen Agarnährboden (mit einem Gehalt von 0,05 Proz.  $\text{Na}^2\text{CO}_3$ ) machten, um hiervon, im Falle sie durch die früheren Behandlungen verunreinigt waren, neue Reinkulturen herstellen zu können. Das Ergebnis war, daß wir fast alle Kulturen sofort als rein bezeichnen mußten.

Zu den weiteren Tierversuchen wählten wir zwei dieser neuen Bouillonkulturen, nämlich S. und L., welche, wie schon früher bemerkt, die größte Aehnlichkeit mit dem wirklichen *B. anthracis* hatten.

[Auch die Platten K. enthielten dem wirklichen *B. anthracis* völlig ähnliche Kolonien. In Bouillon übertragen, wurde keine Trübung hervorgerufen, es wuchsen die Bakterien unter Bildung einer Oberflächenhaut und eines flockigen Bodensatzes. Im hängenden Tropfen beobachtet, waren die Bakterien viel dünner und etwas kürzer, als diejenigen von L. und S. (2—4  $\mu$  lang, 2—3  $\mu$  breit). Sie bildeten gleichfalls lange Fäden und hatten weniger scharf abgeschnittene Enden. Die nebenbei angestellten Tierversuche ergaben andauernd negative Resultate, weshalb wir von einer weiteren Fortführung absahen.]

Ganz kurz erwähnen wir folgende morphologische Eigenschaften der Bakterien S. und L. Die Kulturen des *B. pseudanthracis* unterschieden sich auf Agarplatten in keiner Weise von denen des wirklichen *B. anthracis*, welcher zum direkten Vergleich auf Agarplatten gezüchtet wurde.

### Beobachtungen im hängenden Tropfen.

#### Die Kulturen sind entnommen

von Agarplatten:	aus Bouillon:
Stäbchen 3—5 $\mu$ lang, 0,3—1 $\mu$ breit, ohne Bewegung.	Stäbchen 3—5 $\mu$ lang, 0,7—1 $\mu$ breit. Deutliche, teils lebhafte Eigenbewegung. Bouillon anfangs wenig getrübt, nach 24 Stunden klar, dünne Oberflächenhaut, flockiger Bodensatz.

### Beobachtung der mit Karbolfuchsin gefärbten Präparate.

Stäbchen 3—5 $\mu$ lang, 0,8 $\mu$ breit.	Lange Fäden und einzelne Bakterien 3—5 $\mu$ lang, 0,8 $\mu$ breit. Reichliche Sporenbildung.
---	---

### Mit Methylenblau gefärbt:

Stäbchen 3—5 $\mu$ lang, 0,8—1 $\mu$ breit.	Lange Fäden und einzelne Bakterien 3—5 $\mu$ lang, 0,8—1 $\mu$ breit.
---	--

Mit diesen beiden Kulturen L. und S. wurde nun eine Reihe von Impfversuchen vorgenommen. Anfangs haben wir den Mäusen nur eine Platinöse voll unter die Haut gegeben, worauf sie ausnahmslos wenig oder gar nicht reagierten. Später schritten wir zu größeren Dosen und machten Injektionen bis 0,5 ccm. Durch diese allmählich gesteigerten Injektionen reagierten die Mäuse jetzt, aber es trat der Tod derselben nicht ein.

Wir entschlossen uns, nochmals die anaërobe Züchtung zu wiederholen, unter geringen Abänderungen in der Zusammensetzung der Nährbouillon, indem wir von jetzt an nur noch Bouillon verwendeten, welche im Verhältnis 1:5 verdünnt war. Wir fanden, daß die Vermehrung der Bakterien in den anaëroben Kulturen bei der Verdünnung 1:10 eine sehr geringe war und glaubten die bisherigen Mißerfolge vielleicht darauf zurückführen zu müssen. Die anaërobe Züchtung ist in der neueren Weise 3 Wochen lang fortgeführt.

Am 1. September haben wir 4 Mäuse mit der anaëroben Bouillonkultur von L. und S. geimpft, und zwar wurden anfangs den Mäusen nur 0,2 ccm injiziert.

Bouillonkultur	Zustand der Mäuse nach		Bemerkungen
	24 Stunden	48 Stunden	
L. { a) . .	krank	gesund	} Sodann dauernd gesund bis zum 4. Tage.
b) . .	"	"	
S. { a) . .	gesund	etwas krank	
b) . .	krank	krank	

Am 4. September sind dieselben Mäuse abermals geimpft. Sie erhielten jetzt 0,5 ccm von derselben Bouillonkultur, wie am ersten Tage:

Bouillonkultur	Zustand der Mäuse nach		Bemerkungen
	24 Stunden	48 Stunden	
L. { a) . .	etwas erkrankt	krank	} Bis zum 8. Tage gesund.
b) . .	krank	"	
S. { a) . .	krank	gesund	
b) . .	schwer krank	verendet	

Der Befund der in der Nacht vom 4. zum 5. September verendeten Maus ist folgender:

Im Blute, von dem nur wenig vorhanden war, konnten keine Bakterien nachgewiesen werden, wohl aber in der bedeutend vergrößerten Milz. Die Leber hatte ein dunkelbraunes Aussehen. In den Nieren fanden sich hier und da zahlreiche Bakterien, welche als gefärbte Präparate denjenigen des benutzten *B. pseudanthracis* völlig glichen. Von der Milz, der Leber und den Nieren sind sofort kleine Teile in unverdünnte Bouillon übertragen, die Flüssigkeit bei Bluttemperatur 8 Stunden lang stehen gelassen, dann die Milz, Leber und Nierenteile daraus entfernt und die Flüssigkeit bei 37° weitere 12 Stunden lang in den Brutschrank gestellt. Diese Kulturen haben wir zur Impfung von Agarplatten benutzt. Es ergab sich, daß die Kulturen aus der Milz und der Leber Fäulnisbakterien enthielten und zur Weiterimpfung nicht geeignet erschienen. Die Kultur aus der Niere war rein und wurde diese zur Impfung einer neuen Maus benutzt. Zugleich ist am selben Tage *B. pseudanthracis*, von einer Agarplatte entnommen, einer Maus unter die Haut gebracht.

Wir erwarteten, daß die durch den Tierkörper gegangenen Bakterien nun genügend virulent seien, um weitere Tiere zu töten, mußten uns aber überzeugen, daß es nicht der Fall war.

Bei den anderen 3 Mäusen, die am 1. und 4. September injiziert sind, wurden die Einspritzungen mit 0,5 ccm der Bouillonkultur noch dreimal, in Zwischenräumen von je 4 Tagen, wiederholt. Nach jeder Injektion war eine Erkrankung wahrzunehmen, die aber immer wieder nach ungefähr 24 Stunden verschwand. Die Mäuse reagierten also schwach auf die Injektion und gaben uns zu der Vermutung Veranlassung, daß durch die wiederholten Impfungen vielleicht eine gewisse Immunisierung erfolgt sein könnte. Bei 2 Mäusen trat nach der 4. Einspritzung an den Injektionsstellen eine Geschwürbildung auf, die 5 Tage nach der letzten, 5. Impfung gut geheilt war.

Am 26. September haben wir alle 3 Mäuse mit wirklichem *B. anthracis* geimpft, und zwar in der Weise, daß ihnen in einen an der Schwanzwurzel angebrachten Schnitt mittels der Platinöse geringe Mengen einer auf ihre Virulenz geprüften Strichkultur des *B. anthracis* unter die Haut gebracht wurde.

Die mit L. a) und L. b) geimpften Mäuse blieben gesund. Zwar zeigte sich an der Impfstelle eine neue Geschwürbildung, die langsam abheilte; die Mäuse machten jedoch bald wieder einen völlig gesunden Eindruck und blieben auch andauernd gesund. Die mit S. b) geimpfte Maus war nach ungefähr 36 Stunden verendet. Diese Kultur hatte also keine immunisierenden Eigenschaften. Mit der anaëroben Bouillonkultur von L., die immunisierend gewirkt hatte, wurden weitere Immunisierungsversuche an Mäusen gemacht, jedoch ohne Erfolg. Die Tiere verendeten.

Von der Bouillonkultur S., die bei einer Injektion von 0,5 ccm noch zwei weitere Mäuse getötet hatte, wurde auch einem Kaninchen 1 ccm injiziert, ohne hier tödlich zu wirken. Man konnte zwar während einiger Tage eine Temperaturerhöhung des Versuchstieres wahrnehmen, es hatte keine Freßlust, indes wurde es bald wieder völlig gesund.

Auffälligerweise fand sich in den Organen der toten Mäuse nur eine geringe Anzahl von Bakterien des *B. pseudanthracis* und lag die Möglichkeit vor, daß die Bakterien bei der anaëroben Züchtung vielleicht ein giftiges Stoffwechselprodukt gebildet hatten.

Um hierüber Aufschluß zu erhalten, wurde eine anaërobe Bouillonkultur, unter Innehaltung aller Kautelen, durch ein Chamberlandfilter filtriert und 0,5 ccm vom Filtrat einer Maus in der Weise eingespritzt, daß die Flüssigkeit direkt ins Blut übertrat. Es stellte sich weder eine Erkrankung noch eine Geschwürbildung ein. Die Maus blieb andauernd gesund.

Durch eine Veranlassung wurden die Versuche einige Zeit unterbrochen und dann von den Tochterkulturen der ursprünglich pathogene Eigenschaften zeigenden Flüssigkeiten an 8 Mäuse je 0,5 ccm übertragen. Diese Mäuse blieben andauernd gesund. In dem neuen Nährmedium war also die pathogene Eigenschaft abermals verloren gegangen.

Wir griffen nun zu den alten ursprünglichen anaëroben Kulturen

und spritzten hiervon am 19. Oktober morgens 4 neuen Mäusen je 0,5 ccm von der Kultur L. und S. ein

Bereits am Abend desselben Tages war die eine Maus S. verendet. Der Befund der inneren Teile bestand darin, daß die Milz vergrößert und dunkelbraun gefärbt war. In dieser fanden sich reichliche Bakterien von *B. pseudanthracis*, wie auch in der Leber; am zahlreichsten aber in den Nieren. Mit einem sterilen Messer wurde ein Teil der Niere zerstückelt, die Stücke in Bouillon übertragen und über Nacht in einen Brutschrank gestellt. Am anderen Morgen sind die Nierenteile entfernt. Die Bouillon war leicht getrübt und hatten sich Bakterien in reichlicher Menge entwickelt. Zur Ueberzeugung, ob die Bouillon frei von anderen Bakterien war, wurde eine Oese voll von der Bouillon auf Agarnährboden übertragen und Platten gegossen. Auf diesen Platten entwickelten sich nur Kolonien von *B. pseudanthracis*, die Bouillonkultur war also rein und konnten wir diese zu weiteren Uebertragungen auf Tiere benutzen.

Am 22. Oktober, morgens 10 Uhr, impften wir zwei Mäuse mit je 0,5 ccm der Nierenbouillonkultur. Nachmittags 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Uhr war die eine Maus verendet, die andere starb 4 Uhr. Im Blute beider Mäuse, in der Milz, in der Leber und in den Nieren fanden sich zahlreiche Bakterien des *B. pseudanthracis*.

Eine geringe Menge des Blutes der zuerst verendeten Maus ist sofort wieder in Bouillon übertragen. Am 24. Oktober wurde eine Maus mit 0,5 ccm und ein Meerschweinchen mit 1,0 ccm dieser Bouillon geimpft.

Die Maus starb noch am selben Tage. Das Meerschweinchen zeigte nach 24 Stunden Krankheitssymptome, die aber wieder verschwanden. An der Impfstelle bildete sich ein Geschwür, welches in den folgenden Tagen einen recht großen Umfang einnahm. Bei der am 24. Oktober verendeten Maus fanden sich die Bakterien am zahlreichsten in der Milz; diese sind abermals in Bouillon übertragen und ist am 27. Oktober ein neue Maus mit der Flüssigkeit geimpft, welche Maus am selben Tage abends verendete. Zahlreiche Bakterien des *B. pseudanthracis* fanden sich in der Milz und im Blute. Von letzterem wurden Uebertragungen in Bouillon gemacht.

Da das am 24. Oktober geimpfte Meerschweinchen am 27. Oktober wieder gesund zu sein schien, wurden diesem 1,0 ccm der neuen Bouillonkultur eingespritzt. Hierauf reagierte das Meerschweinchen, aber ohne zu verenden und bildete sich an der Impfstelle ein neues Geschwür.

Von der Bouillonkultur aus dem Blute der am 27. Oktober verendeten Maus ist am 28. Oktober nachmittags eine Maus geimpft, die in der darauffolgenden Nacht verendete. Es fanden sich die charakteristischen Bakterien bei dieser letzteren Maus im Blute, Leber, Milz und in der Niere. Vom Blute ist eine letzte Uebertragung in Bouillon gemacht, die noch mehreren Mäusen eingeimpft wurde. Sie starben alle.

Am 2. November glaubten wir, dem Meerschweinchen, welches wieder ganz wohl zu sein schien, virulenten Anthrax geben zu dürfen, da vielleicht schon Immunität durch die Injektionen mit *B. pseud-*

*anthracis* erlangt sein könnte. Das Meerschweinchen erhielt 0,5 ccm einer virulenten Anthraxbouillonkultur eingepfist. Drei Tage blieb dasselbe gesund, in der Nacht zum vierten Tage war es verendet. Die Wirkung des virulenten Anthrax schien durch die vorherigen zwei Impfungen mit *B. pseudanthracis* abgeschwächt zu sein, weil der Tod ziemlich spät eintrat. Anthrax fand sich im Blute, in der Leber und in den Nieren. An der Injektionsstelle, wo die letzte Einspritzung mit *B. pseudanthracis* gemacht und das Geschwür noch nicht verheilt war, fanden sich in den umliegenden entzündeten Hautteilen reichliche Mengen von Bakterien des *B. pseudanthracis*, es war also hier eine ausgiebige Vermehrung der Bakterien eingetreten.

Mit der Bouillonkultur aus dem Blute der zuletzt verendeten Maus sind sodann 2 Meerschweinchen geimpft; es blieb aber immer nur bei lokalen Geschwürbildungen und war demnach die Virulenz des *B. pseudanthracis* nicht soweit gesteigert, daß Tiere, die größer und widerstandsfähiger als Mäuse sind, daran zu Grunde gingen.

Zur Verstärkung der Virulenz schickten wir die Bakterien abermals durch eine Maus und machten mit der damit geimpften Bouillon einem anderen Meerschweinchen eine Injektion von 1 ccm.

Das Gewicht dieses am 6. November geimpften Meerschweinchens betrug 376 g. Temperatur 38,4. Nach 24 Stunden zeigte es leichte Erkrankungssymptome, die sich durch Unlust zum Fressen und Mattigkeit zu erkennen gaben. Das Gewicht betrug jetzt 368 g, die Temperatur 39,2. Das Meerschweinchen blieb am Leben, hatte aber bis zum 9. November 18 g seines Körpergewichtes verloren (358 g) und bildete sich an der Impfstelle ein Geschwür.

Am 9. November, morgens 10 Uhr, erhielt dasselbe abermals 1 ccm eingespritzt. Gewicht des Tieres 358 g.

Nach einigen Stunden trat Reaktion ein. Das Meerschweinchen war sehr ruhig, atmete stark und verweigerte die Annahme von Futter.

Am 10. November war das Meerschweinchen noch am Leben, aber Futter hatte es seit der Injektion nicht zu sich genommen. Das Körpergewicht betrug jetzt 351 g. Noch zwei Tage lang war ein Unwohlsein, sowie eine geringe Gewichtsabnahme zu bemerken. Mit der Verheilung des Geschwüres, das einen beträchtlichen Umfang angenommen hatte, trat wieder Freßlust ein und blieb das Tier nun gesund.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir.

Von

**Dr. Ed. von Freudenreich,**

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der Molkereischule Rütli bei Bern.

Mit 2 Figuren.

(Schluß.)

### **Bacillus caucasicus.**

Auf den gewöhnlichen Gelatineplatten wächst der *Bacillus caucasicus* nicht. Nur einmal konnte ich aus einer anaëroben Gelatineplatte (Gelatine im Reagensglase mit Paraffinüberzug nach Miquel's Methode) züchten; andere Male dagegen wollte dieses nicht gelingen, ohne daß ich einen Grund dafür angeben könnte. Vielleicht war er gerade dieses Mal im Aussaatmaterial sehr reichlich vertreten oder vielleicht sagte ihm die betr. Gelatine aus irgend einem unbekannten Grunde ganz besonders zu. Auch auf Milchzuckergelatineplatten traf ich ihn nie. Hat man ihn einmal isoliert, so wächst er auch in Stichkulturen, selbst in gewöhnlicher Gelatine, aber dann erst nach längerer Zeit. Es beruht dieses wohl auf der bekannten Erscheinung der Angewöhnung an das Nährsubstrat. Aehnlichem begegnet man ja bekanntlich bei der Isolierung und Züchtung der Tuberkelbacillen und anderer pathogenen Mikroorganismen. Auf Milchzuckergelatineplatten, die ich mit Reinkulturen beschickte, hatte ich öfters gar kein Wachstum, andere Male mikroskopische Kolonien.

Auf den Milchagaroberflächeplatten hatte ich dagegen öfters Gelegenheit, die Entwicklung seiner Kolonien beobachten zu können. Auf diesen bildet er kleine, flache grauliche Kolonien, die dem bloßen Auge rund erscheinen. Bei schwacher Vergrößerung betrachtet sind sie nicht gleichmäßig rund und haben oft unregelmäßige Konturen; schwach vergrößert erscheinen sie weißlich und gekörnt. Diese Körnung wird gebildet durch das wirre Durcheinanderliegen der Bacillen, wie man es am Rande, aus welchem bacilläre Formen hervorrageu, deutlich sehen kann.

In gewöhnlicher Nährbouillon konnte ich, selbst bei 35°, kein Wachstum beobachten. In Milchzuckerbouillon ist bei 22° das Wachstum langsam; nach 3 Tagen ist noch nichts zu sehen. Bei 35° dagegen ist das Wachstum rascher. Die Reaktion wird sauer.

In Milch bringt er keine Gerinnung hervor, obwohl die Reaktion eine etwas saure wird. Der Geschmack solcher Milch ist leicht sauer und adstringierend, ähnlich demjenigen, den *Streptococcus b* in Milch hervorbringt. Die Gasbildung ist eine mäßige.

Auf Kartoffel erfolgt kein Wachstum.

In Milchzuckerbouillon zeigt er sich gewöhnlich als gerader *Bacillus* mit abgerundeten Enden, oft mit einem glänzenden Punkte an beiden Enden. Diese Erscheinung fällt wohl mit den von Kern als Sporen betrachteten Gebilden zusammen. Für Sporen kann ich sie



indessen nicht halten, besonders wegen der geringen Widerstandskraft der Kulturen. Auch verschwinden diese glänzenden Körperchen bei Anwendung von Färbemitteln, und der Bacillus färbt sich *in toto*, was nicht der Fall wäre, wenn es sich um Sporen handeln sollte. Die Färbung gelingt leicht mit den gebräuchlichen Anilinfarben und nach Gram.

Die Breite des *B. caucasicus* beträgt  $1\ \mu$ , die Länge im Mittel  $5-6\ \mu$ . Jedoch sieht man auch längere Formen, die dann gekrümmt sind. Er ist sehr schwach beweglich.

Wie gesagt, ist seine Widerstandskraft gegenüber äußeren Einflüssen eine geringe.

Eintrocknung verträgt er einen Tag; nach 2 und mehr Tagen war er dagegen regelmäßig abgetötet. Merkwürdig ist, daß er trotzdem in den eingetrockneten Kefirkörnern bekanntlich sehr lange lebensfähig sich erhält. Es rührt dieses wohl davon her, daß er in denselben gegen den Einfluß der Luft besser geschützt bleibt.

Temperaturen von  $45^{\circ}$  und  $50^{\circ}$  C erträgt er ohne Schaden 5 Minuten lang. Bei  $55^{\circ}$  und darüber war er dagegen nach 5 Minuten tot.

Karbonsäure ( $2\frac{1}{4}$  Proz.) tötete ihn bereits nach 30 Sekunden. Sublimat ( $1\%$  Verdünnung) tötete ihn in einem Versuche nach 1, 2 und 60 Minuten, nicht aber nach 5 und 15 Minuten. Dieser Widerspruch in den Resultaten rührt wohl von einer ungleichen Resistenz der einzelnen Bacillen her.

Die Säureproduktion habe ich in gleicher Weise gemessen, wie bei den Streptokokken a und b. Das Resultat giebt folgende Tabelle wieder.

#### Menge der verbrauchten Natronlauge:

Nach	1 Tage (bei $35^{\circ}$ )	Noch kein Wachstum		
"	2 Tagen	"	2,5 ccm	= 0,0562 g Milchsäure
"	3 "	"	4,0 "	= 0,09 " "
"	4 "	"	6,5 "	= 0,1462 " "
"	5 "	"	6,5 "	= 0,1462 " "
"	6 "	"	7,5 "	= 0,1687 " "
"	7 "	"	7,5 "	= 0,1687 " "
"	8 "	"	9 "	= 0,2025 " "
"	9 "	"	9 "	= 0,2025 " "
"	10 "	"	9 "	= 0,2025 " "
"	11 "	"	9 "	= 0,2025 " "
"	12 "	"	9 "	= 0,2025 " "
"	13 "	"	9 "	= 0,2025 " "

Ueber die Gasproduktion bei  $35^{\circ}$  C und  $22^{\circ}$  C giebt folgende Tabelle Auskunft:

		bei $35^{\circ}$	bei $22^{\circ}$
Nach	1 Tage	0 ccm	0 ccm
"	2 Tagen	0 "	0 "
"	3 "	7 "	0 "
"	4 "	9 "	0 "

		bei 35°		bei 22°	
Nach	5 Tagen	14	ccm	0	ccm
"	6	"	21,5	"	0
"	7	"	25,5	"	4,5
"	8	"	28,5	"	7
"	9	"	—	"	10
"	10	"	—	"	13
"	11	"	29,5	"	16
"	12	"	29,5	"	—
"	13	"	29,5	"	20,5
"	14	"	—	"	22
"	15	"	—	"	24,5
"	16	"	—	"	25

Dieses wären, kurz beschrieben, die Mikroorganismen, die sich in dem von mir untersuchten Kefir vorfanden und die ich auf Grund sehr zahlreicher bakteriologischer Analysen als die Erreger dieser eigentümlichen Milchgärung ansehen zu sollen glaube. Freilich stieß ich bei einzelnen Untersuchungen auch auf andere Mikroorganismen, so z. B. auf *Oidium lactis*, auf einen wahrscheinlich mit dem von mir in geblähten Käsen gefundenen *Bacillus Schafferi* identischen, heftige Vergärung des Milchzuckers verursachenden *Bacillus*, auf verschiedene Hefearten, u. s. w., aber diese kamen nicht regelmäßig vor, so daß sie wohl nur als zufällige Beimischungen anzusehen sind. Bekanntlich wird bei der Kefirbereitung die Milch bloß aufgekocht, so daß je nach der Sorgfalt, mit der das Aufkochen vorgenommen wird, mehr oder weniger verschiedene Mikroorganismen sich neben den eigentlichen Kefirbakterien zu entwickeln Gelegenheit haben.

Nun war aber auch der Beweis zu leisten, daß die gefundenen Mikroorganismen wirklich auch die Erreger der Kefirgärung seien. Sicher war, daß eine Symbiose mehrerer Mikroorganismen vorliegen mußte, denn einzeln in sterilisierte Milch verimpft (in Flaschen mit Bierverschluß) konnte keiner derselben die Kefirgärung hervorbringen.

Auch mit zwei Mikroorganismen allein konnte ich nie Kefir erzeugen. Die Hefe mit dem *Streptococcus a* brachte die Milch zum Gerinnen, mit geringer Gasbildung, eine weitere Veränderung trat aber nie ein. *Streptococcus b*, vereint mit der Hefe in Milch verimpft, brachte Gasbildung hervor, sauren Geschmack, aber keine Gerinnung. Die Stärke der Gasbildung war in meinen Versuchen eine wechselnde, was wahrscheinlich mit einer Abnahme der Virulenz dieses *Streptococcus* auf unseren Nährböden zusammenhängt. Auch mit der Hefe und dem *Bacillus caucasicus* allein konnte ich nie Kefir herstellen.

Aber auch Impfungen mit den vier Mikroorganismen zusammen scheiterten anfänglich regelmäßig. Es entwickelte sich eine Milchsäuregärung, die Milch kam zum Gerinnen, aber weiter kam es nicht. In der Meinung, daß zunächst die Symbiose dieser vier Mikroorganismen zu begünstigen sei, suchte ich zunächst Mischkulturen derselben herzustellen, indem ich die vier Mikroorganismen aus Bouillonreinkulturen

auf schräge Milchzucker-Agarflächen impfte; auch impfte ich direkt aus frischem Kefir, indem ich eine Platinöse desselben auf die Agarfläche strich und erhielt auch so Mischkulturen der vier Mikroorganismen. Dieselben stellen einen grauen, ziemlich dicken Belag und lassen sich beliebig weiter züchten. Als ich nun von solchen Mischkulturen in Milch impfte, sah ich wieder meist nur eine Milchsäuregärung eintreten ohne Bildung von eigentlichem Kefir. Diese Thatsache war mir anfänglich ziemlich unbegreiflich, denn die zahlreichen früheren Untersuchungen hatten mich überzeugen müssen, daß die gefundenen Mikroorganismen jedenfalls die gewöhnlichen Erreger der Kefirgärung sein mußten. Indessen begegnet man auch bei der Kefirbereitung aus Kefirkörnern einer ähnlichen Thatsache. Bekanntlich genügt es nicht, um Kefir zu erzeugen, einige Körner in eine mit Milch gefüllte und gut verschlossene Flasche einzusäen. Zunächst übergießt man eine große Menge Körner mit Milch, läßt diese bis zum Eintreten des Sauerwerdens stehen, und erst dann füllt man sie in geschlossene Flaschen, in welchen dann die eigentliche Kefirgärung sich vollzieht. Ueberdies ist zu bemerken, daß oft trotz aller Sorgfalt der Kefir mißlingt, ein Beweis, daß diese eigentümliche Gärung nicht so leicht einzuleiten ist. Nun machte ich die Sache ähnlich wie bei der Kefirbereitung aus Kefirkörnern: Als in meinen mit Mischkulturen geimpften Flaschen nach einigen Tagen Milchsäuregärung eingetreten war, versuchte ich von dieser geronnenen, oft durchschüttelten Milch in neue, mit steriler Milch gefüllte Flaschen zu impfen (etwa einige Löffel voll). Nun endlich sah ich nach dieser zweiten Passage in vielen Flaschen eine ganz echte Kefirgärung eintreten, die sich dann leicht von Flasche zu Flasche fortzüchten ließ. War dagegen wiederum nur eine Milchsäuregärung eingetreten, was auch oft vorkam, so suchte ich durch eine dritte oder vierte Passage zum Ziele zu kommen. Hie und da war es der Fall, andere Male dagegen blieb es stets bei der bloßen Milchsäuregärung. Jetzt versuchte ich es auch wieder mit Bouillonreinkulturen, statt mit Mischkulturen, und impfte dann von der sauer gewordenen ersten Milch in eine zweite Flasche. Auch hier sah ich jetzt einige Male eine Kefirgärung eintreten, aber, wie mir scheint, weniger leicht, als wenn mit einer Mischkultur der Anfang gemacht wurde. Der Grund hiervon ist wohl darin zu suchen, daß in den Mischkulturen die verschiedenen Mikroorganismen sich einander anpassen, auch im richtigen Zahlenverhältnis zu einander stehen, während bei Impfung gleicher Mengen von Bouillonreinkulturen der eine Mikroorganismus zu sehr die Oberhand gewinnt.

Als Beispiele gelungener Kefirgärungen mögen die folgenden, meinem Versuchsprotokolle entnommenen Experimente dienen:

25. XI. 1892. Eine Agarmischkultur wird in eine gut verschlossene Flasche sterilisierter Milch verimpft. Am 8. XII. ist bloß Milchsäuregärung zu konstatieren. Kein Kefirgeschmack. Eine zweite Flasche wird an diesem Tage mit dem Inhalt der ersteren geimpft; am 14. XII. hat man in der zweiten Flasche einen ganz guten Kefir.

8. XII. 1892. Impfung einer Agarmischkultur in Milch. Am 14.

XII. bereits ziemlich guter Kefir. Neue Impfung von dieser Flasche in eine andere; am 20. XII. guter Kefir.

9. I. 1893. Impfung einer Agarmischkultur in Milch. Am 16. I. platzt die Flasche; vom Rest der Milch wird eine neue Flasche geimpft; am 21. I. Milchsäuregärung; nach einer zweiten Passage erhält man am 25. I. ganz guten Kefir.

18. I. 1893. Impfung einer Agarmischkultur 7. Generation in Milch. Am 21. I. Milchsäuregärung; davon eine zweite Flasche geimpft; beginnender Kefir am 25. I. Dieser am 25. I. in Milch verimpft giebt sehr guten Kefir am 27. I.

25. I. 1893. Impfung einer Agarmischkultur 8. Generation in Milch. Am 28. I. Milchsäuregärung. Nach einer 2. Passage in Milch guter Kefir am 2. II.

23. I. 1893. Impfung einer Gelatinemischkultur in Milch. Am 27. I. Milchsäuregärung. Neue Impfung in Milch, am 30. I. guter Kefir.

31. I. 1893. Impfung einer Agarmischkultur 6. Generation in Milch. Am 6. II. guter Kefir, aber etwas sauer. Neue Impfung von dieser Flasche in Milch am 6. II. Die Flasche platzt am 8. II., wahrscheinlich infolge eines unbemerkt gebliebenen Risses. Eine Aussaat vom Rest der Milch auf Agar giebt wiederum eine Mischkultur der vier Mikroorganismen.

28. I. 1893. Einsaat einer Agarmischkultur in Milch. Am 31. I. Milchsäuregärung. Weitere Impfung, worauf am 6. II. guter Kefir erzielt wird.

1. II. 1893. }  
7. III. 1893. } Nach 2 Passagen, ebenfalls guter Kefir.

16. III. 1893. Einsaat einer Agarmischkultur 3. Generation in Milch. Am 20. III., also ohne eine zweite Passage, guter Kefir.

29. III. }  
4. IV. } Nach Einsaat von Agarmischkulturen, guter Kefir nach der zweiten Passage.

13. IV. 1893. Einsaat einer Bouillonkultur eines jeden dieser vier Mikroorganismen in Milch. Am 18. IV. starke Gärung, aber noch kein Kefirgeschmack. Verimpfung in eine zweite Flasche Milch. Am 25. IV. fast Kefirgeschmack, aber nicht ganz rein. Neue Impfung, darauf guter Kefir; am 5. V. Impfung dieses Kefirs auf Agar giebt eine Mischkultur der vier Mikroorganismen.

25. IV. 1893. Einsaat der 4 Mikroorganismen in Milch (Bouillonkulturen). Erst am 5. V. untersucht: starke Gärung und Kefirgeschmack. Eine zweite Umzüchtung in Milch giebt guten Kefir.

12. V. 1893. Einsaat einer Agarmischkultur in Milch. Am 18. V. Milchsäuregärung. Nach Umzüchtung in eine zweite Flasche Milch guter Kefir am 23. V.

20. V. 1893. Einsaat der 4 Mikroorganismen (Bouillonkulturen) in Milch. Am 23. V. Milchsäuregärung. Nach zwei Umzüchtungen guter Kefir, der, auf Agar verimpft, die eingesäeten Mikroorganismen wiedergiebt.

19. VII. 1893. Einsaat der 4 Mikroorganismen in Milch (die zwei Streptokokken in Milch gezüchtet). Zunächst Milchsäuregärung, dann nach einer zweiten Passage guter Kefir.

Diese vielen Versuche zeigen zur Genüge, daß die vier beschriebenen Mikroorganismen durch ihre Symbiose die Kefirgärung hervorzu- bringen imstande sind. Freilich könnte ich auch viele mißlungene Experimente anführen, bei welchen ich, trotz mehrfacher Umzüch- tungen, nie über eine Milchsäuregärung hinauskam. Dieses ändert jedoch nichts an den positiven Resultaten und hat auch sein Ana- logon in der Praxis der Kefirbereitung, denn vielfach geschieht es in Kefiranstalten, daß bei fortgesetztem Verimpfen von Flasche zu Flasche auf einmal die Kefirgärung versagt; man muß dann den Kefir aus Kefirkörnern frisch herstellen oder anderen Kefir als Impf- material benutzen. Woran das liegt, ist schwer zu sagen; möglicher- weise liegt es an einer ungenügenden Sterilisierung der Milch, so daß fremde Bakterien die Oberhand gewinnen; mir ist es z. B. zuweilen passiert, daß ich in schlecht gelungenem Kefir, dessen Geschmack auch sehr schlecht war, ganz fremde Bakterien antraf, obwohl meine Milch im Autoklaven  $\frac{1}{4}$  Stunde lang auf  $115^{\circ}$  erhitzt worden war, was nebenbei gesagt, die Schwierigkeit der sicheren Sterilisierung der Milch zeigt, oder der Grund des Mißlingens liegt vielleicht darin, daß durch irgend eine Ursache das richtige numerische Verhältnis zwischen den einzelnen Kefirbakterien gestört wird, so daß die not- wendige Symbiose nicht zustande kommt. Sehr wahrscheinlich ver- lieren auch mit der Zeit die Kulturen ihre ursprünglichen Eigen- schaften, wenn sie lange auf künstlichen Nährböden gezüchtet werden; ich könnte mir sonst nicht erklären, wie Kulturen, mit denen ich eine Zeit lang Kefir herstellen konnte, nach einigen Monaten unwirk- sam geworden waren.

Am unklarsten ist noch die Rolle, welche der *Bacillus cau- casicus* bei diesem Gärungsprozeß spielt. Es ist mir nämlich ge- lungen, auch bloß mit der Hefe und den zwei Streptokokken einen Kefir herzustellen, der sich kaum von dem gewöhnlichen unterscheidet. Seine Gegenwart scheint daher nicht ein absolutes Erfordernis zu sein, da er jedoch in den Kefirkörnern stets in großer Anzahl vor- handen ist, kann man ihn doch nicht als bloß zufällige Beimischung ansehen. Ich wäre geneigt anzunehmen, daß er an der Bildung der Kefirkörner sich bethätigt, eine Meinung, die auch Beijerinck teilt; jedoch habe ich in dem mit Kefirkulturen hergestellten Kefir nie auch nur den Anfang einer Körnerbildung beobachten können, und eine Synthese dieser Körner ist mir noch nie gelungen. Wie dieselben sich ursprünglich gebildet haben, bleibt vorläufig noch etwas unklar.

Wie wir sehen, ist noch manches bezügl. der Entstehung des Kefirs in Dunkel gehüllt. Ueberdies möchte ich betonen, daß es gar nicht notwendig, ja nicht einmal wahrscheinlich ist, daß in jedem Kefir die von mir gefundenen Mikroorganismen und nur diese vor- handen sein müssen. Wie die Milchsäuregärung nicht bloß von einem, sondern von verschiedenen Mikroorganismen zu Wege gebracht wer- den kann, so kann man auch annehmen, daß andere Bakterien als mein *Streptococcus b* imstande seien, den Milchzucker so zu ver- ändern, daß ihn die Kefirhefe zu Alkohol verarbeiten kann; auch sehe ich keinen Grund, warum nicht verschiedene Milchsäurebakterien die Rolle meines *Streptococcus a* übernehmen könnten, dem ja

bei der Kefirgärung bloß die Rolle zufällt, die Milch zum Gerinnen zu bringen. Es würde mich daher nicht wunder nehmen, wenn in einem Kefir anderer Herkunft z. T. andere Mikroorganismen aufgefunden werden sollten. Die Hefe und der *Bacillus caucasicus* werden wohl eine konstante Erscheinung bleiben, denn man trifft sie bereits in den Kefirkörnern an; die beiden Streptokokken dagegen dürften sich eher durch ähnliche, mit gleichen Eigenschaften ausgerüsteten Mikroorganismen ersetzen lassen. In jedem Falle aber wird eine Symbiose verschiedener Mikroorganismen die Grundlage der Kefirgärung bilden.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Fäulnis der Rebentriebe, durch *Botrytis cinerea* verursacht.

Von

Dr. Ugo Brizi,

Assistenten a. d. Königl. pflanzen-pathologischen Versuchsstation in Rom.

Im Monat Mai v. J. (1896) sandte Baron Cornacchia in S. Benedetto del Tronto (Prov. Ascoli Piceno) an die Kgl. pflanzen-pathologische Station in Rom einige Rebentriebe, welche von einer Krankheit befallen waren, die ich als jener ähnlich erkannte, welche unlängst in Frankreich von Prof. Foëx (Revue de Viticulture. Vol. V. No. 116) beschrieben und von demselben als von *Botrytis cinerea* verursacht angesehen wurde.

Obwohl das Auftreten dieses Pilzes, so wie in jeder Weinbau treibenden Gegend, auch in Italien sehr häufig ist, war es doch ganz neu, eine durch denselben verursachte, tiefgehende Veränderung und Fäulnis der Rebentriebe beobachten zu können. Gewöhnlich entwickelt er sich nur im Spätherbst, und zwar an den Traubenbeeren, denen er, einzelne Fälle ausgenommen, keinen nennenswerten Schaden verursacht, wobei er die Edelfäule bedingt, welche ganz besonders am Rhein einen geschätzten Reifegrad der Traube darstellt. Es schien mir nun der Mühe wert, den Parasitismus dieses Pilzes auf den Trieben der Rebe näher zu studieren. Um so mehr, als sowohl aus der Untersuchung der eingesandten Triebe, wie auch aus den Berichten des Barons Cornacchia hervorging, daß der verursachte Schaden außergewöhnlich ernst zu sein schien. Thatsächlich fielen die von der Krankheit befallenen Schößlinge zergliedert zu Boden, indem dieselben an der Verbindungsstelle mit dem alten (einjährigen) Holze abbrachen, selbstverständlich samt den daran hängenden Blättern und Träubchen.

Im Auftrage des Kgl. Ackerbauministeriums besuchte ich nun die Weinberge des Baron Cornacchia, und konnte dabei wahrnehmen, daß die Krankheit keine bedeutende Ausdehnung genommen hatte. Auf den wenigen betroffenen Stöcken aber trat sie sehr heftig

und schadenbringend auf. In wenigen Tagen waren starke 14 bis 16 jährige Reben ihrer blatt- und fruchttragenden Schößlinge vollständig beraubt, so daß sie ein Aussehen wie mitten im Winter hatten.

Der erwähnte Weinberg hat eine vorzügliche Lage am Abhange eines dem Meere zugekehrten und von diesem nur einige hundert Meter entfernten Hügels. In demselben befanden sich die wenigen betroffenen Stöcke unregelmäßig zerstreut, ohne anscheinenden Zusammenhang, gemischt und ineinander gewunden mit solchen, die vollkommen gesund geblieben waren und unter denselben Bedingungen von Boden, Licht, Lage etc. standen.

Die auffallendste Erscheinung an den kranken Trieben war das Gelbwerden und die zunehmende Entfärbung der Blätter. Diese Erscheinung traf ich beständig an, Foëx erwähnt dagegen dieselbe mit keinem Worte.

Die Blätter zeigen die charakteristischen Merkmale der gewöhnlichen Gelbsucht (Chlorose). Das Gelbwerden beginnt nämlich zwischen den Blattrippen, und das Blatt wird nach und nach weißlich. Hierauf verdorrt es, ohne eine Spur einer Pilzinfektion zu zeigen, was nur bei den untersten Blättern der Fall ist, d. h. bei jenen, welche nahe an den infizierten Triebteilen stehen, und die direkt vom Pilze angegriffen werden und verdorren.

In den vielen von mir besuchten Weingärten war jedoch die Gelbsucht der Rebe nicht in allen Fällen von der Fäulnis der Triebe bedingt. Es steht aber außer allem Zweifel, daß alle Fälle, in denen die Fäulnis nachgewiesen werden konnte, stets von der Erscheinung einer je nach Umständen mehr oder weniger ausgesprochenen Gelbsucht der Blätter und Ranken begleitet waren.

Im Anfange der Infektion zeigen die jungen, grünen Rebentriebe an der Verbindungsstelle mit dem einjährigen Holze eine kleine, bräunliche, runde Wulst, und zwar gleich oberhalb der Stelle, an welcher sich die Knospe entwickelte, d. h. am untersten Knoten.

Mit bemerkenswerter Raschheit dehnt sich der braune Fleck längs des ersten Gliedes (Internodium) aus, häufig nur auf einer Seite, viel seltener aber ringsherum. Da sind schon alle Gewebe gründlich verändert, der Trieb wird äußerst leicht zerbrechlich, an der Bruchstelle eine glasähnliche Bruchfläche zeigend, und bei der leisesten Berührung springt er vom einjährigen Holze ab.

Die Bruchfläche sowohl der abgesprungenen Tragrebe, wie jene des einjährigen Holzes, erscheinen grünlich und anscheinlich noch gesund.

Während aber das brandartige Absterben (Nekrosis) der Gewebe gegen das Innere des Triebes fortschreitet, wie ich später auseinandersetzen werde, werden zuerst das Rythidom und später das Holz selbst gänzlich desorganisiert und zerstört, zumeist jedoch nur an der Verbindungsstelle des Triebes mit dem einjährigen Holze. Da aber diese Desorganisation der Gewebe gewöhnlich nur auf einer Seite des Triebes stattfindet, so ereignet es sich, daß die Zerstörung infizierter Gewebe so weit fortschreitet, daß die junge Tragrebe mit dem einjährigen Holze schließlich nur durch einen schmalen Streifen einer dünnen Xylemschichte verbunden bleibt.

Dieser Streifen erhält zwar noch durch einige Zeit den Trieb, welcher auch in diesem Stadium der Krankheit nur die charakteristischen Merkmale einer intensiven Gelbsucht aufweist, aufrecht, bei fortschreitender Zersetzung der Gewebe aber, die auch auf den Streifen übergeht, genügt der geringste mechanische Stoß, Wind oder dergl., oder auch das eigene Gewicht der Tragrebe, wenn dieselbe freisteht, um deren Abfallen vom Stocke zu verursachen.

Erfolgt die Zersetzung nicht einseitig, sondern in Ringform, so zergliedert sich und fällt der Trieb viel rascher ab, weil nachdem die Nekrosis das Rythidom zerstört hat, dieselbe das Holz angreift, von welchem in Kürze nur ein dünner Cylinder übrig bleibt, der, wenn auch nicht verfault, bald bricht, so daß der Trieb bald abfällt.

Wie schon erwähnt, nehmen die braunen Flecken ihren Ursprung stets an der Berührungsstelle des jungen Triebes mit dem einjährigen Holze. Manches Mal dehnen sie sich aber auch auf vier, fünf und sechs Glieder des Triebes aus. Da kommt es nun vor, daß, wenn auch die Infektion nicht allzu stark auftritt, und bevor sich noch eine entschiedene Chlorose der Blätter und Ranken zeigt, die Glieder sehr brüchig werden und bei dem unbedeutendsten Anlasse abspringen, eine glatte und reine Bruchfläche zeigend. Nur sehr selten gehen die Veränderungen der Triebe auf die Blattstiele und auf die Blattsubstanz selbst über und noch seltener auf die Traubenstiele.

Der Blattstiel zeigt hauptsächlich längs der Rinne eine bräunliche Färbung, welche, von unten beginnend, sich rasch gegen das Blatt zu ausbreitet. Nicht selten wird der Stiel zergliedert, öfter aber, und zwar wenn die braune Färbung ziemlich ausgebreitet ist, verfault er und die Blattsubstanz schrumpft ein, häufig ohne eine Spur des Pilzes zu zeigen.

Aber auch die Blattsubstanz wird manchmal direkt angegriffen, wobei der Pilz auf der Blattoberfläche breite, braune Flecken bildet, die wie vertrocknet aussehen und bereits von Rava z (Revue de Vitic. Vol. IV. 1895) beschrieben wurden. Diese Flecken unterscheiden sich leicht von jenen, welche von dem Mehltau (*Peronospora*) oder anderen Krankheiten verursacht sind, dadurch, daß, wenn man die Blätter in der Kammer mit feuchter Luft einschließt, sich auf denselben rasch die charakteristischen Konidienträger der *Botrytis cinerea* Pers. entwickeln.

In den von der Krankheit befallenen und abgestorbenen Geweben, welche die eben beschriebenen äußeren Merkmale zeigen, findet man das charakteristische Mycelium von *Botrytis cinerea*, und zwar besonders stark wuchernd in den Markzellen, welche mit großer Raschheit zerstört werden und dabei eine schwarze Färbung annehmen. Der Mark selbst verschwindet bald fast ganz oder verwandelt sich in eine faulende Masse.

Das Mycelium durchdringt auch alle weichen Gewebe der Rinde und den Holzcylinder, durchsetzt die Markstrahlen, zerstört das Cambium, befällt die Zwischenräume der jungen Gefäße und verschont auch nicht das Holzparenchym sowie die mechanischen Stränge des Rythidoms. Nur diese letzteren widerstehen manches Mal und



dann zeigt der Trieb an der Bruchstelle eine Art Franse, welche eben von diesen Strängen gebildet wird.

Im Mark ist es sehr leicht, den Lauf des Myceliums zu verfolgen. Dasselbe durchdringt, der Länge und der Breite nach, die Zellen, sich mehrmals auf sich selbst zurückschlagend. Schwieriger wird die Verfolgung in den Markstrahlen und im Rindengewebe, weil die Elemente (Zellen) des infizierten Gewebes außerordentlich rasch schwarz werden, wodurch es schwer wird, die Verästelungen des Myceliums wahrzunehmen. Dies wird nur möglich, nachdem man durch längere Zeit die Gewebe gelockert hat, welche vorher in Alkohol mit den üblichen Reagentien behandelt und schließlich mit saurem Fuchsin gefärbt worden sind.

Die im Rindengewebe vorkommenden Myceliumfäden trifft man nicht nur in den befallenen und in Fäulnis übergehenden jungen, grünen Trieben, sondern auch in den Rindengeweben, in den Markstrahlen und selbst im Marke des einjährigen Holzes an der Anwachsstelle der jungen Tragrebe.

Diese Thatsache begründet die Raschheit und Plötzlichkeit, mit welcher die Infektion vor sich geht, und die eigentümliche Trennung des grünen Triebes vom alten Holze, weil sie beweist, daß mit großer Wahrscheinlichkeit das Mycelium von *Botrytis* auf der verholzten Rebe überwintert hat. Allerdings ist es schwer, mit Bestimmtheit behaupten zu können, daß das hier vorgefundene Mycelium im einjährigen Holze überwintert habe. Dasselbe könnte hingegen auch erst während der Infektion von der Anwachsstelle des jungen Triebes aus in das alte Holz eingedrungen sein oder auch in der Knospe selbst überwintert haben. Die Thatsache aber, daß man es im alten Holze vorfindet, läßt erstere Hypothese zum mindesten sehr wahrscheinlich erscheinen.

Das Mycelium des Pilzes häuft sich in großer Menge besonders im Marke an. Wenn der Trieb schon in einem Zustande vorgeschrittener Fäulnis sich befindet und dem Abspringen nahe ist, zieht sich das Mycelium zu Sklerotien zusammen, welche zuerst weiß sind und darauf vollkommen schwarz werden. Diese Sklerotien sind linsenförmig, haben häufig eine gerunzelte Oberfläche und kommen in der Markhöhle in der Zahl von 2 bis 6 vor.

Eine derartige Sklerotienbildung konnte ich in fast allen Fällen, welche ich auf noch am Stocke sitzenden Trieben untersuchte, beobachten, während Prof. Foëx (l. c.) behauptet, daß genannte Sklerotien sich nur dann bilden, wenn die Triebe bereits verfault und schon seit einiger Zeit vom Stocke abgefallen sind. In den abgesprungenen und in der feuchten Kammer aufbewahrten Trieben geht die Sklerotienbildung äußerst rasch vor sich und in einem Zeitraume von 12—24 Stunden bilden sich, auf Kosten des Myceliums, dicke Sklerotien, welche oft ganz bedeutende Ausdehnung annehmen. Außer im Innern des Triebes bilden sich aber auch Sklerotien an seiner äußeren Oberfläche, und zwar auf Kosten eines dicken, muffartigen, milchweißen Myceliumgebildes, welches in der feuchten Kammer die Außenseite des Triebes umwickelt. Die so gebildeten Sklerotien sind nicht linsen-, sondern kugelförmig, manchmal erbsen-

groß oder wie eine Kichererbse, mit einer unregelmäßig runzeligen Oberfläche.

Die konidientragende Form entwickelt sich nur selten auf den Trieben, und zwar nur auf denjenigen, welche bereits zur Erde gefallen sind und nicht in die feuchte Kammer gegeben werden. Auf den noch auf dem Stocke sitzenden Trieben gelang es mir nämlich nicht, dieselbe zu beobachten, während ich in den in die feuchte Kammer gegebenen immer eine sehr schnelle und äußerst reichliche Entwicklung von Mycelium bemerkte, welcher die Bildung von Sklerotien folgte. Die konidientragende Form war hingegen in überaus reichlicher Menge auf den vom Boden um den Stöcken aufgesenen Trieben vorhanden.

Um mir nun genaue Rechenschaft über die vom Pilze ausgeübte Wirkung zu geben, führte ich einige Versuche einer künstlichen Weiterverbreitung der Krankheit aus. Zu diesem Zwecke infizierte ich einige junge grüne Triebe an der Anwachsstelle mit dem einjährigen Holze. In einigen Fällen wurde, behufs der Infizierung, die bewußte Stelle einfach mit *Botrytis*konidien enthaltendem, destilliertem Wasser äußerlich bepinselt. In anderen Fällen legte ich unter einen in die Rinde praktizierten T-förmigen Einschnitt einige Stücke des von einem erkrankten Triebe genommenen Markes; in anderen Fällen infizierte ich durch reines, einer üppigen Kultur entnommenes Mycelium und schließlich noch durch das Legen von Sklerotienfragmenten in eigens unter die Rinde ausgeführte Einschnitte. Selbstverständlich wurde in allen Fällen unter Beobachtung der gewöhnlichen Vorsichtsmaßregeln, welche bei derartigen Untersuchungen geboten sind, vorgegangen.

Die mit Konidien infizierten Triebe zeigten keine Spur der Krankheit und ebenso jene, welche mit Sklerotienfragmenten infiziert worden waren. Dagegen zeigten zwei von denen, bei welchen die Infizierung mit Mycelium vorgenommen worden war, nach 8 Tagen auf einer Seite des Gliedes einen langen schwarzen Streifen, welcher die Anwachsstelle des jungen Triebes vollkommen umwickelte. Ein anderer Trieb zeigte schon von allem Anfang an nicht den schwarzen Streifen, sondern ein rasches Absterben des ganzen Knotens. Die zwei ersten Fälle, in welchen die charakteristischen Merkmale der Krankheit in reiner und entschiedener Form hervortraten, waren jedoch jene, welche mit Stücken der von dem Pilze durchwachsenen Gewebe, der letzte hingegen mit dem von einer Reinkultur herstammenden Mycelium infiziert worden waren.

In allen drei Trieben, in denen die Krankheit Platz gegriffen hatte, entwickelte sich das Mycelium des Pilzes, nachdem sie in die feuchte Kammer gestellt worden waren, in allen Geweben, wodurch vorerst ein dicker, aus Mycelium gebildeter Muff und dann zahlreiche und große Sklerotien entstanden.

Ich muß noch hinzufügen, daß die künstliche Infizierung mittels der Konidien allein auf den Blättern vollkommen gelang. Unter zwölf infizierten Blättern zeigten neun die eigentümlichen schwarzen Flecken, und in der feuchten Kammer aufbewahrt, bedeckten sich dieselben sehr bald mit Konidienträgern, während nach wenigen

Tagen auf den Blättern sehr kleine Sklerotien entstanden, nicht größer als ein Hirsekorn, kugelig und mit vollkommen glatter Oberfläche.

In der erforschten Gegend blieb, wie ich schon erwähnt, die Krankheit auf wenige Stöcke beschränkt, welche der *Gaioppa* oder *Lacrima delle Marche* genannten Traubensorte angehörten. Auch traf ich dieselbe in einem Umkreise von vielen Kilometern in der Umgebung, sowie in den durchforschten Bezirken der Gemeinden Monte S. Polo, Monte Prandone längs des Trontothales, nicht wieder an.

Die Raschheit, mit welcher die Krankheit auftrat und der wirklich drohende Anschein, den diese angenommen hatte, gaben den dortigen Weingartenbesitzern zu den schlimmsten Befürchtungen Anlaß. Aber außer den wenigen, in den darauffolgenden Monaten in Gefahr gekommenen Stöcken breitete sich das Uebel gar nicht aus, selbst nicht einmal auf den den kranken zunächststehenden Rebstöcken.

Dies beweist, daß die Krankheit wahrscheinlich ganz besondere Entwicklungsbedingungen erfordert, da sie nicht nur äußerst selten auftritt, sondern auch ihren Kreislauf sehr rasch beendet, indem sie direkt von der Mycelform zu der überwinternden Sklerotiumform übergeht, als ob der Pilz keine günstige Gelegenheit finden würde, seine fruchthabenden Vermehrungsorgane, d. h. die Konidien, auszubilden und keine Bedürfnisse hätte, für die Erhaltung der Species zu sorgen. Es stellt daher die von *Botrytis cinerea* verursachte Fäulnis der Rebentriebe mit großer Wahrscheinlichkeit einen eigentümlichen und ziemlich vereinzelter Fall dar, in welchem der Pilz (konidientragender Zustand der *Sclerotinia Fuckeliana*), der fast immer ein Saprophyt ist, aus nicht vollkommen bekannten Ursachen, trotz der Untersuchungen von Marshall Ward und Kissling, zum Parasiten wird. Und weil die hierzu günstigen Bedingungen wahrscheinlich auch nur von kurzer Dauer sind, so ist auch die dadurch verursachte Krankheit wenig zu fürchten.

Von den Bekämpfungsmitteln dieser Krankheit ist nichts bekannt. Nur ist es angezeigt, die erkrankten größeren Triebe samt dem einjährigen Holze, aus dem sie entsprossen sind, vom Stocke zu entfernen und zu vernichten, um die mögliche Ueberwinterung des Myceliums oder auch die rasche Bildung der Sklerotien zu verhindern. Noch weniger ist bekannt, womit der Krankheit vorgebeugt werden könnte, doch ist es nicht unwahrscheinlich, daß die Kupfersalze auch gegen diese ihre wohlbekannte Wirkung nicht verfehlen dürften, obwohl die vor mir beobachteten und stark befallenen Reben wiederholt und kunstgerecht bespritzt worden waren und sogar einige der am stärksten betroffenen Triebe noch von der Bordelaiser Brühe bedeckt waren. Wie aber schon erwähnt wurde, war die diesjährige Infektion wahrscheinlich nichts als die Folge eines im vorigen Jahre stattgefundenen Einfalles der Krankheit, weshalb es nicht zu verwundern ist, wenn die Kupfersalze nicht imstande waren, den Keim der Krankheit, welche bereits im latenten Zustande auf den Rebstöcken sich befand, zu töten.

15. Januar 1897.

Nachdruck verboten.

## Kleinere mykologische Mitteilungen.

[Aus dem Techn.-chem. Laborat. d. Techn. Hochschule zu Hannover.]

Von

Dr. C. Wehmer.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Es ist nun Thatsache, daß die genannten wärmeliebenden Arten auch bei Zimmertemperatur ganz gut gedeihen; im ganzen gedeihen sie hier auffälligerweise sogar noch besser als die anderen, sofern diesen nicht besondere Ernährungsverhältnisse zugute kommen (*A. glaucus* auf Pumpnickel oder trockenen Pflanzenteilen) und erzeugen da auch durchweg massigere Vegetationen (cf. Abb. der Tafel). Wir haben in ihnen offenbar erheblich lebenskräftigere Species mit „bescheideneren“ Ansprüchen vor uns. Die gegen Wärme empfindlichsten Arten sind (mit Ausnahme von *A. glaucus*) im ganzen auch die selteneren und, wie es scheint, von „zarterer“ Konstitution, wensschon wir auch *flavus* und *fumigatus* nicht gerade zu den häufigeren rechnen dürfen. Jedenfalls sind aber der braune (*Ostianus*), der weiße<sup>1)</sup>, sowie die zwei anderen grünen (*minus* und *varians*) recht selten, die man nur zufällig einmal in dürrtigen Vegetationen „wild“ zu Gesichte bekommt, während *flavus* und *fumigatus* an etwas wärmeren Orten mit Vorliebe reichlich auftreten, und dort auch meist methodisch eingefangen werden können. *A. Oryzae* und *Wentii* sind in ihrer Heimat bekanntlich fast ebenso gemein wie bei uns *A. niger*.

Alle 5 letztgenannten sind bezüglich der Kulturbedingungen nicht wählerisch; sie erzeugen auch bei 10—15° C allmählich derbe umfangreiche Schimmeldecken unter Umständen, wo die anderen nur mäßig fortkommen. Insbesondere giebt auch *A. glaucus* mit Zuckerlösungen (mit Mineralsalzen) meist nur zarte Vegetationen und gedeiht gleichfalls nur auf bestimmten Kultursubstraten (so z. B. auf Würzelgelatine) lebhaft. Feste Substrate scheinen ihm im ganzen zusagender.

Nach Abschluß der Versuche fand sich zufällig noch *A. clavatus* Desm. auf verdorbener Würze im Laboratorium ein; die Art gehört auch zu den seltenen und war vielleicht gleichfalls gegen höhere Wärmegrade empfindlich<sup>2)</sup>. Die sogleich in Angriff genommene

1) In der Litteratur gehen mehrere weiße Species. Vermutlich entsprechen dieselben aber einer einzigen weißen Art, für die ich hier den Wilhelm'schen Namen *A. albus* gebrauche. Die Beschreibung Wilhem's paßt wenigstens auch befriedigend auf die von mir in Kultur gehaltene Form. Link's *A. candidus* war, wenn er genauer beschrieben wäre, auch wohl nichts anderes und hätte dann die Priorität. — Die Gattung *Aspergillus* ist — beiläufig bemerkt — reich an ganz zweifelhaften Arten, mit denen wohl besser aufgeräumt würde, als daß sie fortlaufend die Litteratur belasten (*A. nigrescens*, *nigricans*, *flavescens* und viele andere).

2) Das Optimum wird hier als zwischen 20—30° C liegend angegeben (Johann-Olsen). Diese Zahl ist aber nach obigem Endergebnis sicher zu niedrig. Daß dem

Prüfung dieser Frage ergab dann jedoch, daß der bei Zimmer-temperatur auf Würze oder Zuckerlösung ganz passabel gedeihende Pilz im Wärmeschrank bei 35—40° C auf den gleichen Substraten üppig und erheblich schneller zur Entwicklung kam, somit den Arten mit höher liegendem Wachstumsoptimum zuzurechnen ist. Jene Vermutung traf also für diese Art nicht zu.

Uebrigens trifft jene Thatsache ebensowenig für *A. nidulans* (*Sterigmatocystis* nach Eidam) zu, die nach dem Stande unseres heutigen Wissens auch als selten zu betrachten ist und nach Eidam bei 38—42° C am besten gedeiht<sup>1)</sup>.

Die bemerkenswerte Erscheinung, daß unter den bislang näher darauf untersuchten und jedenfalls sichergestellten 12 *Aspergillus*-Species nicht weniger als 7 ein hoch liegendes Temperaturoptimum (ziemlich gleichmäßig annähernd bei Blutwärme) besitzen, verdient jedenfalls der Hervorhebung. Demgegenüber finden die übrigen 5 Arten nur bei wesentlich niedrigeren Temperaturgraden die zusagenden Entwicklungsbedingungen. So sehen wir auch hier innerhalb dieser interessanten Formenreihe<sup>2)</sup> dieselbe Erscheinung: Was dem einen nützt, schadet dem andern, und es liefern ihre morphologisch einander so ähnlichen Angehörigen jedenfalls eine gute Illustration in der bekannten Thatsache, daß eben in der Hauptsache die Wesensnatur des Organismus über die Art der Wirkung äußerer Einflüsse entscheidet. Andererseits sehen wir in dem durch die Substratbeschaffenheit induzierten, wenn auch geringfügigen Schwanken der Optimal- und Maximaltemperaturen für Keimung und Wachstum das Mitspielen rein chemischer Momente. Genauere Studien über

---

Autor eine andere Form vorlag, ist (bei der leichten Unterscheidbarkeit gerade dieser Art) weniger wahrscheinlich, als daß seine Temperaturangabe sich nur auf ein Substrat besonderer Zusammensetzung bezieht. In der That ist Zucker mit Eiweiß (verd. Würze) für diesen Pilz bei Bluttemperatur weit weniger gut als Zucker mit Mineralsalzen, auf denen er ergiebiger und erheblich schneller zur Rasen- und Konidienbildung kam. Somit auch hier eine Verschiebung des Optimums durch den Substrateinfluß, wie ich es bereits früher für *A. niger* angab.

1) Vielleicht ist die Art aber gar nicht einmal so selten, denn sie wurde von Lindt sowie Siebenmann auch gelegentlich als Bewohner des menschlichen Ohres erwähnt. *Niger*, *fumigatus* und *flavus* sind ja gleichfalls in dieser Beziehung berühmt und es früge sich demgegenüber, ob nicht auch *clavatus* (einschließlich der zwei anderen) an solchen Orten auftreten kann (*A. nigricans*, *nigrescens* und *flavescens* sind als Species bekanntlich zu streichen).

2) Es braucht kaum bemerkt zu werden, daß man einstweilen wohl am besten thut, die Gattung *Aspergillus* (im weitesten Sinne) als solche bestehen zu lassen, somit nicht *Eurotium* und etwa auch noch *Sterigmatocystis* als gleichwertig abzugliedern. Die charakteristischen Conidienträger sind für alle diese Species das in der That Bezeichnende und in den meisten Fällen auch ausschließlich sowie massenhaft vorhanden, während es mit den Schlauchfrüchten durchweg recht schlecht bestellt ist. Zudem sind diese wieder ganz verschiedener Art; die Abtrennung ebensovieler Gattungen mag ja wissenschaftliche Befriedigung gewähren, führt im übrigen aber leicht zu Unklarheiten und ist vom praktischen Gesichtspunkte aus jedenfalls zu verwerfen. *A. niger* und *flavus* mit de Bary zu *Eurotium* zu stellen, liegt bislang keinerlei Grund vor, da eigentliche Perithezien nur von der einen Art (*glaucus*) bekannt sind. Noch weniger lassen sich aber (wie van Tieghem wollte) alle Species der Gattung *Eurotium* subsumieren. Es ist doch besser, den Thatsachen keine Gewalt anzuthun und sie einfach zu nehmen wie sie sind. Bleiben wir also einstweilen bei *Aspergillus*.

den Einfluß der Temperatur können der Berücksichtigung auch dieses Punktes jedenfalls nicht mehr entbehren, wie denn überhaupt die sog. „Kardinalpunkte“ strenge Giltigkeit nur für ganz bestimmte Verhältnisse haben, somit genau genommen das nicht sind, was sie sein sollen. Es ist ja auch vorauszusehen, daß bei Abänderung der sonstigen Bedingungen — und dahin gehört nach Thiele auch schon die Konzentration — der Effekt der Wärmewirkung nicht immer der gleiche bleiben wird.

### III. Ein bemerkenswerter Fall von Coremienbildung.

Coremienbildung ist bekanntlich bei einer Zahl von Pilzen keine seltene Erscheinung, wenngleich sie in Kulturen gewöhnlich nur vereinzelt und wenig regelmäßig auftritt. Eine besonders gute Ernährung des Mycels ist jedenfalls für ihr Zustandekommen nicht allein bestimmend, denn die Thatsache, daß man sie nicht nach Willkür hervorrufen kann, beweist, daß da mehrerlei in Frage kommt. Ob eine besonders reichliche Nahrungszufuhr dabei überhaupt eine Rolle spielt, scheint zur Zeit auch noch fraglich, denn bislang hat man sich nur mit dem Konstatieren der Erscheinung da, wo sie gerade auftrat, begnügt.

Auf die Umstände, die bei ihrem Zustandekommen mitwirken, scheint ein Versuch einiges Licht zu werfen, den ich unlängst einige Monate verfolgte und den ich hier in Kürze schildere. Da der Sache selbst immerhin nur ein untergeordnetes Interesse zukommt, sind auch weiter ausgreifende Experimente nicht angestellt. Immerhin verdient die eigenartige Beobachtung auf Grund ihrer außerordentlichen Regelmäßigkeit sowie ihres Umfanges der Erwähnung. Die Thatsachen sind kurz folgende:

In einem großen, zur Hälfte mit Nährlösung (10-proz. Dextrose mit Mineralsalzen) gefüllten Glasballon (25 l), der zu einer Massenkultur eines anderen Pilzes bestimmt war, fand sich kurz nach Aussaat des am Boden zur Entwicklung gelangenden Kulturmaterials trotz vorsichtiger Impfung etc. eine oberflächlich wachsende Verunreinigung (Mycelflocke) ein, die sich langsam zu einem kleinen grünen Polster weiterentwickelte. Der Kolben stand alsdann, ohne durch irgendwelche Berührung bewegt oder erschüttert zu werden, in einem dunklen Schranke, dessen Thür nur ab und zu zwecks Besichtigung geöffnet wurde. Das farbige Schimmelpolster wuchs nun allmählich zu einer üppigen Vegetation heran und hatte nach Verlauf von 2—3 Monaten mehrere Quadratdecimeter der Oberfläche bedeckt.

Das Auffällige der Erscheinung — dieserhalb unterblieb auch ein Abbrechen des ja an sich verunglückten Versuches — war nun aber, daß die gesamte Decke aus zahllosen, überaus zierlichen, regelmäßigen, bis 1 cm hohen Coremienbündeln bestand, die streng baumartig in Reihen, Kreisen oder Gruppen sich aus flottierenden Mycelflocken über die Flüssigkeitsoberfläche erhoben und somit eine eigentliche Schimmeldecke mit ihren fädigen Conidienträgern überhaupt nicht vorhanden war. Aus dem bräunlichen submersen Mycel erhoben sich in regelmäßigen Abständen die schneeweißen Stämmchen (oben ins Gelbe spielend), deren Krone dann von den auseinander

spreizenden dunkelgrünen Massen der Conidienketten gebildet wurde. Offenbar von der einen hineingelangten Conidie ausgehend, hatte sich das Mycel auf der durch keine Bewegung gestörten Oberfläche mit einer erstaunlichen Regelmäßigkeit nach bestimmten Seiten weiterentwickelt, ohne daß es durch jüngere, den gebildeten Conidien entstammende Mycelien gestört worden wäre. Neben den die Spitzen der Ausläufer (cf. Fig. 2) einnehmenden jungen, noch schneeweißen, sehr regelmäßig gebauten keuligen Bündeln fanden sich solche auch ab und zu eingeschaltet zwischen den älteren. Die beistehende, wenigstens einen Teil der Oberfläche deutlich wiedergebende Abbildung (Photogr.) mag das Bild vervollständigen; dieselbe giebt speziell eine sehr regelmäßig ausgebildete Allee von Coremien wieder.

Daß nun in erster Linie die absolute Ruhe bei dem Zustandekommen dieser Vegetation mitwirkt, ergibt sich ohne weiteres daraus, daß, nachdem der Kolben jetzt an einen anderen (belichteten) Ort transportiert wurde, die abstäubenden Conidien in wenigen Tagen die ganze Oberfläche mit einer gleichmäßigen Schimmeldecke bezogen. Besondere Umstände in der Art der Ernährung und anderes waren also unwesentlich; ob etwa noch der Lichtmangel mitspielte, will ich nicht entscheiden. Die stetige ungestörte submerse Entwicklung des Mycels auf dem großen zur Verfügung stehenden Raume dürfte wohl das Hauptmoment sein. In der That sieht man ja auch sonst, wenn Pilzdecken sich auf sehr großen Oberflächen entwickeln, gelegentlich Abweichendes erscheinen, also solche Bildungen auftreten, wie sie in kleinen Kulturkolben gewöhnlich mangeln. Ich weise da z. B. auf Sklerotien von *Aspergillus niger* hin, die ich in reichlicher Zahl und guter Ausbildung bislang nur unter solchen Umständen bis fast zur Erbsengröße erhielt, auf die eigenartigen fruchtähnlichen Bildungen, die auf den *Citromyces*-Decken der Citronensäure-Gärungsbotteiche aufzutreten pflegen etc. Die Größe der Kulturgefäße ist also auch wohl nicht immer ganz gleichgiltig. Ob noch sonstiges mitwirkt und wie etwa das soeben berührte Moment in Anschlag zu bringen ist, soll hier nicht entschieden werden; es ließe sich da schließlich auch noch anderes anführen. So ganz „zufällig“ tritt die Erscheinung jedenfalls nicht ein.

Um kurz auch die Speciesnatur des Pilzes zu berühren, so sei hier bemerkt, daß es sich um *Penicillium luteum* — also nicht um *P. glaucum*, wie man wohl auf Grund des Deckenaussehens geschlossen hätte — handelte. Die länglichen Sporen (Conidien) und der wirbelig verzweigte Conidenträger schließen diese Art aus; zur Stellung der Diagnose bedarf es der Ascusfrüchte also nicht; fast auffälligerweise fehlten auch diese, obgleich sie sonst nicht selten sind, im übrigen aber sehr unregelmäßig auftreten. *P. luteum* ist, wie ich bereits früher hervorhob<sup>1)</sup>, so verbreitet, daß man wohl annehmen darf, es liegt in 4 Fällen, wo die Autoren von *P. glaucum* sprechen, wenigstens 1 mal *P. luteum* vor. Hier im Laboratorium

1) Zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte von *P. luteum* (Ber. Bot. Gesellsch. 1893, p. 499). Auf die Wahrscheinlichkeit der Uebereinstimmung dieser Art mit der Zukal's wies ich bereits hin, Entscheidendes liegt bislang nicht vor. Die Vorliebe des Pilzes zur Coremienbildung habe ich an diesem Orte gleichfalls erwähnt.

war der die Vegetationen anderer Arten meist rasch verdrängende Pilz zeitweise sehr lästig; auf verderbenden Früchten, süßen wie sauren Charakters<sup>1)</sup>, fehlt er selten, gern findet er sich auf ausgepreßten Trauben ein, und in mehreren Fällen konstatierte ich ihn auf den Körken von Rotweinflaschen unterhalb der Stanniolkapsel, wo sich neben den Conidienträgern auch die gelben Schlauchfrüchte fanden. Infektionen von Kulturen verschiedener Art durch diesen Pilz (so auch von älteren Hefekulturen) sind nicht selten und es bedarf einiger Mühe, ihn da zu vertreiben, wo er sich einmal eingenistet hat.

Die ihn kennzeichnende gelbe Färbung, welche sich freilich auf einen Teil der Hyphen beschränkt (Körnchenausscheidung), wurde als auch an den oben beschriebenen Coremien auftretend erwähnt.

#### IV. Kulturversuche mit einigen Hymenomyceten.

Von einer kleineren Zahl Hymenomyceten ist es bekannt, daß sie im Laboratorium unter künstlichen Ernährungsbedingungen zur Entwicklung gebracht werden kann; bei manchen ist das bislang nicht der Fall, und bei den meisten ist es — auch wo es sich im übrigen um bekanntere Arten handelt — noch nicht versucht. Jedenfalls sind aber die Sporen mancher Arten unter den meist gewählten Bedingungen nicht keimfähig — ob das überhaupt der Fall ist, bleibe dahingestellt.

Da eine Anzahl zu verschiedenen Zeiten angestellter Kulturversuche vorwiegend negativ verlief, mag hier wenigstens auch dieses Resultat konstatiert werden. Die wenn auch vereinzelt Ausnahmen legen jedenfalls die Frage nahe, ob in anderen Fällen wirklich allein die vielleicht minder zusagenden Bedingungen den Mißerfolg veranlassen.

1. Champignon (*Psalliota campestris*). Wiederholt angestellte Versuche, diesen Pilz aus den Sporen zu ziehen, verliefen fruchtlos. Geimpfte 5—10-proz. Zuckerlösungen (mit Mineralsalzen oder Pepton) zeigten auch nach Wochen keine Veränderung, sofern wenigstens nicht eine Infektion hinzukam; mikroskopisch blieben die Sporen unverändert, somit auch ohne Quellungserscheinungen. Nicht anders waren die Resultate, welche Herr A. Borchers im verflossenen Sommersemester bei länger andauernden Versuchen erhielt; hier wurden die Sporen speziell auch in Mistdekotgelatine auf dem Objektträger ausgesät und mikroskopisch während des Verlaufs von 2 Wochen eine Veränderung zu konstatieren versucht. Es blieb aber sowohl das Aussehen das Gleiche, wie auch die Messungen keine Quellungserscheinungen nachweisen konnten; frische Sporen sahen nicht anders aus, als die in Kultur gehaltenen.

Etwas anders verhalten sich Mycelfäden, die aus dem Hutinnern, dem jungen Velum, oder der Trama vorsichtig herauspräpariert werden. Sie kommen in verdünnten Zuckerlösungen langsam zur Weiterentwicklung, lieferten aber auch nach Wochen nur dürftige submerse Flocken, die sich aus farblosen septierten weillumigen Hyphen zusammensetzen. Immerhin wird damit erwiesen, daß Organe

1) Daß der Pilz erklärt Säure-liebend ist, habe ich bei anderer Gelegenheit bereits hervorgehoben. („Säure-liebende Pilze“ in Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. 1895 Heft 2.)



oder Organteile, sofern sie überhaupt entwicklungsfähig sind, unter den gewählten Verhältnissen thatsächlich zur Vegetation gelangen können. Bei derartigen Versuchen von dem vegetativen Mycel (das uns als die bekannte „Schwammbrut“ mit Düngerteilchen gemengt von C. Schmidt in Erfurt zur Verfügung gestellt wurde) auszugehen, ist in Hinblick auf die Unmöglichkeit, reine Aussaatflocken zu gewinnen, unthunlich. Denkbar wäre ja, daß sich dieses unter solchen Umständen besser entwickelte. Bakterien und andere Pilze, die in den Nährlösungen sofort die Oberhand bekommen, sind hier aber nicht auszuschließen. — Weiterhin wurde dann die Kulturfähigkeit speziell einiger holzbewohnender Pilze geprüft.

2) *Daedalea quercina*, *Polyporus sulfureus*, *Pholiota squarrosa* wurden speziell auf den von ihnen durchsetzten Holzteilen zu kultivieren versucht, indem die Stücke in bedeckten Beckengläsern mäßig feucht gehalten wurden. Bei Abschluß der Versuche (nach 5 Wochen) war das Resultat rein negativ; nur der letztgenannte Pilz hatte in einem Falle während der ersten Zeit ein zartes Mycelhäufchen, das alsbald zusammenfiel, gebildet. Vielleicht waren die Bedingungen hier nicht die richtigen; die Versuchsgefäße standen bei einer Temperatur von ca. 15° C (Winter) frei belichtet. Von den 3 Arten bewohnen jedenfalls die beiden ersten auch totes, im Zerfall begriffenes Holz; im allgemeinen ändert sich aber wohl bei Inkulturnahme kleinerer Stücke die Zusammensetzung (Auslaugen von Nährstoffen) ziemlich rasch, so daß auch dadurch schon die Hyphenvegetation beeinträchtigt wird. Andererseits sind freilich gewisse andere Formen (so z. B. *Sphaerobolus stellatus*) außerordentlich leicht und reichlich unter solchen Umständen zu ziehen.

3) *Flammula flavida* (?). Sporenkulturen in Zuckerlösung waren resultatlos; besonders groß war hier auch die Schwierigkeit, reine Aussaaten zu erhalten, indem die Lamellen der im Freien herangewachsenen Hüte mit zahlreichen, rasch zur Entwicklung gelangenden fremden Sporen (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*) bedeckt waren.

4) *Polyporus frondosus*. Der Pilz ist relativ leicht in Nährlösung (Zucker) zu ziehen und bildet hier schneeige, später hellgelbliche, aus sehr ansehnlichen Hyphen sich zusammensetzende Decken mit zahlreichen einfach verzweigten Conidienträgern. Diese treten unter zusagenden Witterungsverhältnissen (mangelnde Nässe) auch unterhalb der im Freien wachsenden Hüte auf (Wucherungen auf der Röhrenschicht). Da in den Kulturen Basidienfrucht-artige Bildungen bislang nicht erhalten wurden, so ist auf den genaueren Beweis der Zusammengehörigkeit noch bei anderer Gelegenheit näher einzugehen.

5) *Pleurotus ostreatus*. Dieser ausschließlich Holz bewohnende Pilz bietet insofern einen seltenen Fall, als er aus den Sporen in künstlichen Nährlösungen zur vollen Entwicklung gebracht werden kann. Es gelingt somit, von ihm auf den Zuckerlösungen in den Kulturgefäßen (Erlenmeyer-Kolben) auch wirkliche Hüte (Basidienfrüchte) zu erziehen. Bekanntlich kommt derselbe im Freien nur als Holzbewohner — an alten Stöcken oder noch lebenden Bäumen, insbesondere Buchen — vor; seine muschelförmigen Hüte

sind, wie ich bereits mitteilte <sup>1)</sup>, gegen Frostkälte wenig empfindlich und werfen nach dem Wiederauftauen reichlich Sporen ab. Von diesen stammte das Kulturmateriel; in Zuckerlösung (5 Proz.) mit mineralischen Nährsalzen gebracht, schienen sie anfangs nicht entwicklungsfähig, nach einigen Wochen bildete sich jedoch ein schneeweißes, zunächst submerses Mycel, das allmählich auch eine zarte weißwollige Decke bildete. Mehrfach blieb allerdings diese Decke ganz steril. Nach weiteren Wochen erschienen dann zunächst am Gefäßrande, später auch mitten auf der Decke, kleine zierliche Hüte mit deutlichen Lamellen und gelblicher Oberseite, teils seitlich gestielt, teils mit centralem Stiel und kleinem runden Hut (Fig. 1). Allerdings blieben alle zwerghaft (0,3—1 cm), doch lieferten sie immerhin den einwurfsfreien Beweis für die Zugehörigkeit des Mycels zum *Pleurotus*, die andernfalls naturgemäß immer noch zweifelhaft bleiben muß, da Verunreinigungen und Infektionen bei derartigen, z. T. längere Zeit andauernden Kulturen selten ganz sicher ausgeschlossen sind.

Die farblosen ansehnlichen Hyphen bieten nichts Besonderes, Conidienträger u. a. wurden bislang in den Kulturen nicht beobachtet.

Uebrigens sind Kulturversuche mit mehreren der hier genannten Arten neuerdings auch von Constantin und Matruchot angestellt (Compt. rend. d. séances de la Société de biol. 11. janv. 1896; hier auch die frühere Litteratur); von den beiden zuletzt genannten Pilzen erzielten dieselben sterile Decken, doch beobachteten sie die Entwicklung von *Champignon*-Sporen.

#### Tafelerklärung.

Fig. 1. *Pleurotus ostreatus*, natürlich vorkommende (a) und in Kultur aus den Sporen gezogene Hüte (b), welche letztere den kleineren von a ähneln (bei c). a von unten gesehen (nach dem Wiederauftauen des von einer Buche abgeschnittenen, zuvor eisstarren Materials photographiert; die dann reichlich abgeworfenen Sporen wurden zu jenen Aussaaten benutzt). l = Lamellen. Annäh. nat. Gr.

Fig. 2. Coremionwald des *Penicillium luteum* auf der Flüssigkeitsoberfläche eines größeren Glasballons. (Die Einstellung des photographischen Apparates auf die vorderen Partien läßt die weiter zurückliegenden undeutlich erscheinen. Aufnahme in ungefähr natürl. Größe von der Seite durch die Glaswand des Kolbens hindurch.)

Fig. 3—14. Vergleichende Kulturversuche der *Aspergillus*-Arten unter variierten Bedingungen (Temperatureinfluß).

a) bei Zimmertemperatur (ca. 15° C): Fig. 3—12. — Die Species mit höher liegendem Wachstumsoptimum erzeugen auch unter diesen Bedingungen derbe volle Schimmeldecken: Fig. 3—7 (*A. niger*, *fumigatus*, *flavus*, *Oryzae*, *Wentii* in derselben Reihenfolge). — Die anderen Species bringen es unter sonst gleichen Ernährungsverhältnissen (Zuckerlösung mit Salzen) nur zu merklich bescheideneren Vegetationen, isolierten Polstern und Rasen: Fig. 8—12 (*A. glaucus*, *minimus*, *Ostianus*, *albus*, *varians*, in dieser Reihenfolge der Zahlen).

b) bei Brüttemperatur (35—40° C): Fig. 13—14. — Bilder der Kulturröhrchen mit der gleichen Zuckerlösung nach Conidienimpfung und 6-tägiger Versuchsdauer, (und ebenso noch nach 30 Tagen). Es haben ausschließlich die thermophilen Arten (Fig. 14) starke Vegetationen entwickelt, während die anderen (Fig. 13) so gut wie unverändert (klar und vegetationsfrei) blieben. Nur *A. minimus* zeigt eine kaum sichtbare sterile Flocke an der Gefäßwand, die sich späterhin bei Zimmertemperatur auch lebhaft zur Deckenbildung weiterentwickelte.

Die noch sichtbare (vor Beginn der Versuche angebrachte) Signierung der Gefäße macht die einzelnen Species ohne weiteres kenntlich. Die Erlenmeyer-Kolben stark, die Röhrchen um etwas verkleinert. Alle Versuche zu gleicher Zeit angesetzt und photographisch (ohne Korrektur) reproduziert.

1) Ber. d. Bot. Gesellsch. 1896. Heft 1.

## Referate.

**Zukal, Hugo**, *Myxobotrys variabilis* Zuk. als Repräsentant einer neuen Myxomycetenordnung. (Berichte der Deutsch. bot. Gesellsch. 1895. H. 9. p. 340—347. Mit Taf. XX.)

Dem Verf. ist die Thaxter'sche Abhandlung über Myxobacteriaceen (Bot. Gaz. 1892. mit 5 Taf.), über die ich 1893 im Bot. Centralbl. Beihefte III. p. 180, Centralbl. f. Bakt. Bd. XIII. p. 385 referierte, unbekannt geblieben. Der hier beschriebene Pilz, auf den nicht nur eine neue Gattung, sondern auch eine neue Ordnung der „Myxobotryaceen“ begründet wird, ist identisch mit dem von Thaxter abgebildeten (vergl. auch die Abb. Thaxter's in meinem Lehrbuche der Biologie der Pflanzen. Stuttgart [Enke] 1895. p. 86, 87) *Chondromyces crocatus* und gehört zu der den Acrasiaceen allerdings nahestehenden Schizomycetenfamilie der Myxobacteriaceen (zu der außerdem die Gattungen *Myxobacter* und *Myxococcus* gehören).

Ludwig (Greiz).

**Kedzior**, Ueber eine thermophile Cladothrix. (Archiv für Hygiene. Bd. XXVII. Heft 4.)

Thermophile Bakterien sind zuerst von Miquel und Globig, später auch von Macfadyen und Blaxall, ferner von Rabinowitsch beschrieben worden. Nach diesen Autoren sind solche Bakterien in der Natur sehr verbreitet, so in oberflächlichen Bodenschichten, Kloaken-, See- und Flußwasser, in Exkrementen von Menschen und verschiedenen Tieren etc. Verf. beschreibt eine Cladothrixart, die sich von den bis jetzt bekannten Arten hauptsächlich durch das Wachstum bei hohen Temperaturen (45—65° C) unterscheidet. Dieselbe ist in mit Kloakenwasser angelegter Bouillonkultur zufällig angetroffen worden. Verf. hat dieselbe noch öfter aus Kloaken- und Spreewasser isoliert. Sein Verfahren ist, 5 ccm des fraglichen Wassers mit ebensoviel Bouillon bei 55° C auszusetzen. Nach 16 Stunden gelang es manchmal, in der getrübten Bouillon makroskopisch wahrnehmbare weiße Flocken zu finden, aus denen die thermophilen Bakterien durch Plattenkulturen isoliert werden können. Seine Untersuchungsergebnisse über die neue von ihm gefundene Cladothrixart faßt der Verf. in folgenden Sätzen zusammen:

1) Die Grenzen, in welchen diese Cladothrix wächst, sind Temperaturen von 35—65° C, sie wächst am besten bei 55° C, und aus diesem Grunde kann dieselbe „thermophile Cladothrix“ genannt werden. 2) Sie bildet Sporen. 3) Diese Sporen sind sehr resistent gegen schädliche Einwirkungen, wie: Hitze, chemische Desinfektionsmittel (5-proz. wässrige Karbolsäurelösung), Austrocknen und Besonnung.

Baier (Berlin).

**Marschall**, Ueber die Zusammensetzung des Schimmelpilzmycels. (Arch. f. Hyg. Bd. XXVIII. Heft 1. p. 16.)

Verf. führte seine Untersuchungen mit drei verschiedenen Schimmelarten aus, nämlich *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* und *Mucor stolonifer*. Er züchtete diese auf einer Peptonfleischwasserbouillon, welche einen Zusatz von 1 Proz. Weinsäure und 2 Proz. Traubenzucker enthielt, filtrierte vor Eintritt der Sporulation die entwickelten Kulturen ab und trocknete dieselben bei 105°. In dem erhaltenen Trockenrückstande wurden alsdann der Gesamtstickstoffgehalt, die äther- und alkohollöslichen Bestandteile, der Aschegehalt, die Cellulose und die Stärke bestimmt. Bei der Umrechnung des Gesamtstickstoffes auf Eiweiß stellte es sich heraus, daß außer den Eiweißkörpern noch andere stickstoffhaltige Substanzen in dem Mycel enthalten sein mußten, was dann durch Ausfällung der Eiweißkörper und Bestimmung des Stickstoffes im Filtrat auch bestätigt werden konnte.

Bei einem Vergleiche der von M. gefundenen Werte mit der Zusammensetzung höherer Pilze einerseits und mit der von Bakterien andererseits ergibt sich, „daß die Schimmelpilze rücksichtlich ihrer Zusammensetzung eine Art Mittelstellung zwischen den höheren Pilzen und den Bakterien einnehmen. Den ersteren sind sie an Stickstoff überlegen, den letzteren beträchtlich unterlegen. Bezüglich der Kohlehydrate ist das Verhältnis umgekehrt. Hier rangieren die höheren Pilze an erster Stelle, dann folgen die ihnen nahestehenden Sporen, auf diese die Schimmelpilze, und als letzte, in weitem Abstände, die Bakterien.“

Vogel (Hamburg).

Kayser, M. E. et Barba, M. G., Rapport sur les expériences de vinification faites dans le Gard en 1895. (Extrait du Bull. du Ministère de l'Agriculture. Paris 1896. 19 p.)

In Fortsetzung der Studien über 37 Hefen aus dem Gard und anderen Gegenden, über welche in dem vorhergehenden Berichte Mitteilung<sup>1)</sup> gemacht wurde, haben die Verf. einige von denselben zur Zeit der Weinernte in dem Departement Gard in Mosten verschiedener Reben probiert. Zu diesen Hefen kommen noch andere Rassen, welche aus Trubs aus dem Bordelais, aus Algier und Portugal gezüchtet waren.

In den meisten Fällen wurde der Wein aus Most hergestellt, welcher keinen Zusatz von Weinsäure oder Zucker erhalten hatte.

Der bei den Versuchen eingeschlagene Weg war der gleiche wie in früheren Jahren: Gärung in Fässern von etwa 5 hl Inhalt, welchen der Boden ausgeschlagen war, mit Einsaat der Bodensatzhefe aus 25—30 l bei 60—65° erhitztem Moste. Die Einsaat wurde 30—40 Stunden nach der Füllung der Fässer vorgenommen. Zum Vergleiche kam immer eine Probe des Mostes, welche mit Hefe aus spontaner Gärung versetzt war.

Der Most wurde möglichst gleichmäßig in den Fässern einer Versuchsreihe verteilt. Hierdurch wurden soviel als möglich die Differenzen, welche die Produkte der Hefe und die schließliche Geschmacksprobe beeinflussen können, vermindert.

1) Vergl. dieses Centralbl. Bd. II. No. 20. p. 655.

Zunächst geben die Verff. die Resultate der ersten Versuchsreihe mit den Hefen in gewöhnlichem Most in einer großen Anzahl von Analysen der Weine (rote und weiße) nebst weiteren Angaben über das Resultat der Geschmacksprobe, Farbe der Weine sowie über das Aussehen der Hefe etc.

Die zweite Versuchsreihe umfaßt Gärungen mit den gleichen Hefen in gezuckerten Mosten unter Zusatz von Weinsäure. Auch hier wird eine große Anzahl von Analysen, das Ergebnis der Geschmacksprobe etc. mitgeteilt.

In allen Fällen wurde in dem Weine der Extrakt, der Alkohol und die Acidität, in einigen Fällen auch der Zuckerrest bestimmt. Ein näheres Eingehen auf die Analysen ist um so weniger angezeigt, als sich allgemeine Gesichtspunkte aus demselben noch nicht ableiten lassen. Die Anzahl der Hefen, welche zu den Versuchen verwendet werden mußten, war vorläufig noch zu groß, um das Verhalten einer Rasse in einem Moste von bekannter Zusammensetzung anders als durch die Geschmacksprobe feststellen zu können. H. Will (München).

**Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1895.** Bearbeitet von Prof. Dr. Frank und Prof. Dr. Sorauer. (Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft. Heft 19. Berlin 1896.)

Im vorliegenden Berichte, dem schon in den gleichen Arbeiten ähnliche Berichte für die Jahre 1893 und 1894 vorausgingen, ist wesentlich das Material bearbeitet, welches im Berichtsjahre den Auskunftsstellen für Pflanzenschutz zu Gesichte kam. Daß das natürlich auf Vollständigkeit keinen Anspruch machen kann, indem ja nur relativ selten die Auskunftsstellen von den Landwirten in Anspruch genommen werden, versteht sich von selbst. Der Bericht erhebt auch wohl keinen Anspruch darauf, ein getreues Bild der Verbreitung auch nur der einen oder anderen Krankheit im Gebiete geben zu wollen. Das beweist z. B. die Angabe, daß der bekanntlich allgemein verbreitete Spargelrost nur in Geisenheim und Karlsruhe aufgetreten sei (p. 71). Der wissenschaftliche Wert des Berichtes ist dementsprechend nicht groß, und derselbe ist nur in der Auffassung als nützliches Agitationsmittel für die Bestrebungen des Sonderausschusses für Pflanzenschutz zu verstehen.

Etwas mehr Kritik wäre bei der Bearbeitung der einzelnen Angaben für den Bericht wohl am Platze gewesen. Daß z. B. die Ratten Kartoffeln fressen (p. 57 und 122) und dabei die stärkereichste Sorte bevorzugen, dürfte wohl nur schwierig noch unter das Kapitel Pflanzenkrankheiten unterzubringen sein. Daß die Reblaus in Baden, wo sie bis jetzt notorisch nicht gefunden worden ist, sich weiter ausgebreitet hat (p. 101 und 131), erscheint als ein verzeihlicher Irrtum; daß sie aber von hier aus das ganze oberelsässische Weinbaugebiet bedroht, hätte einige Zweifel an der richtigen Lokalisation der Reblaus wohl erregen dürfen. Eine Rebsorte „Aelpling“ (p. 100) existiert nicht, wohl aber Elbling. *Phragmidium Humuli* Barth ist eine mindestens sehr zweifelhafte Species und dürfte sich wahrscheinlich als ein *Macrosporium*-ähnlicher Saprophyt auf Blattlaus- und Hopfen-spinnenbälgen und -Kadavern entpuppen. Behrens (Karlsruhe).

**Eriksson, J., Welche Grasarten können die Berberitze mit Rost anstecken?** (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. p. 193.)

Aus den Versuchen geht hervor, daß weitere 6 Grasarten als Träger des wirklichen Schwarzrostes anzusprechen sind: *Alopecurus nigricans*, *Avena elatior*, *Elimus arenarius*, *E. glaucifolius*, *Panicum miliaceum* und *Phleum Michelii*. Ferner wird das wirtwechselnde Vermögen der 9 früher in derselben Richtung geprüften Pilzformen weiter bestätigt. In 2 Fällen endlich wurden im Jahre 1895 die Resultate negativ, wo sie früher positiv ausfielen. Dies traf mit den Formen auf *Poa pratensis* und *Triticum unicum* ein. Negativ waren auch wie früher die Resultate mit der Form auf *Phleum pratense* und *Festuca elatior*. Die Zahl der schwarzrostähnlichen Pilzformen, welche zu der wirklichen wirtwechselnden *Puccinia graminis* sicher zu rechnen sind, ist gegenwärtig 23. Diese Grasarten sind die folgenden: *Agrostis stolonifera*, *A. vulgaris*, *Aira caespitosa*, *A. flexuosa*, *Alopecurus nigricans*, *A. pratensis*, *Avena elatior*, *A. sativa*, *Bromus secalinus*, *Dactylis glomerata*, *Elymus arenarius*, *E. glaucifolius*, *Hordeum vulgare*, *Milium effusum*, *Panicum miliaceum*, *Phleum Boehmeri*, *Ph. Michelii*, *Poa Chaixii*, *P. compressa*, *Secale cereale*, *Triticum caninum*, *T. repens*, *T. vulgare*.

Eine besondere Aufmerksamkeit verdient die hier ausgelassene Form oder vielleicht Formen auf *Poa pratensis*. Die Versuchsergebnisse zweier Jahre sind nämlich kaum anders zu verstehen, als daß 2 verschiedene schwarzrostähnliche Pilzformen auf *P. pratensis* vorkommen, und spricht für eine solche Hypothese auch eine beobachtete Verschiedenheit in der Lokalisierung der beiden mutmaßlichen Formen. Bemerkenswert ist, daß während *Thimotheegras* von *Phleum pratense* und *Festuca elatior* sich fortwährend unfähig zeigte, die Berberitze anzustecken, eine ähnliche Form von *Phleum Michelii* auf den genannten Strauch übergang. Die Zahl der *Phleum*-Arten, welche wirklichen Schwarzrost tragen, beträgt nur 2, *Phl. Boehmeri* und *Phl. Michelii*.     Stift (Wien).

---

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

**San.-Rat. Dr. ARTHUR WÜRZBURG,**  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

---

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

**Duhourcau,** Les laboratoires bactériologiques en Espagne et en Portugal. (Rev. des Pyrénées. T. VIII. 1896. No. 1, 2.)

**Lickfett,** Bericht über die Thätigkeit der bakteriologischen Anstalt der Stadt Danzig in der Zeit von ihrer Eröffnung am 10. Februar 1896 bis zum 1. Oktober desselben Jahres. 8°. 18 p. Danzig 1896.

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Abel, R.**, Zur Färbung des Coccidium oviforme. (Centralbl. f. Bakteriöl. etc. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 25. p. 904—905.)
- Francoette, P.**, Mesures dans les recherches microscopiques. (Bullet. de la soc. belge de microsc. T. XXII. 1896. No. 5/7. p. 122—127.)
- Nelson, E. M.**, New portable microscope. (Journ. of the R. microsc. soc. 1896. pt. 3. p. 351.)
- Schubert, M.**, Ueber die Züchtung der Amöben auf festen Nährböden. (Hygien. Rundschau. 1897. No. 2. p. 72—76.)

## Systematik, Morphologie und Biologie.

- Duclaux, E.**, Sur la structure des bactéries. Revue critique. (Annal. de l'Institut Pasteur. 1896. No. 12. p. 729—738.)
- Elliason, A. G.**, Svampar ur C. J. Johansons herbarium. (Botan. notiser. 1896. Häftet 5. p. 205—214.)
- Giltay, E.**, Pasteur und die alkoholische Gärung. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXX. 1896. Heft 1. p. 71—80.)
- Hérissay, H.**, Action du chloroforme sur la maltase de l'*Aspergillus niger*. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 29. p. 915—917.)
- Herla, V.**, Sur un nouveau bacille capsulé. (Arch. de biol. 1896. Fasc. 3. p. 403—429.)
- Jourdain, S.**, Contribution à l'étude du rouget. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 24. p. 1082—1084.)
- Labbé, A.**, Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur les coccidies. (Arch. de zool. expér. et génér. 1896. No. 3. p. 517—548.)
- Laborde, J.**, Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle, l'*Eurotiopsis Gayoni*. Thèse. 4<sup>e</sup>. 125 p. Bordeaux (Impr. Gounouilhon) 1896.
- Marlatt, C. L.**, Revision of the Nematinae of North America, a subfamily of leaf-feeding hymenoptera of the family Tenthredinidae. (U. St. Departm. of Agricult., Division of entomol.) gr. 8<sup>o</sup>. 135 p. Washington 1896.
- Mattirolo, O.**, Sulla *Tilletia controversa* Khn. raccolta in Albania dal Dott. Baldacci. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. p. 107—109.)
- Michel, A.**, Sur la différenciation du bourgeon de régénération caudale chez les annélides. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 24. p. 1080—1082.)
- Morgan, A. P.**, The myxomycetes of the Miami Valley. IV. (Journ. of the Cincinnati soc. of natural history. 1896. p. 78—110.)
- Prix pour l'étude des ferments alcooliques. (Journ. de la distillerie franç. 1897. No. 661. p. 48—49.)
- Saccardo, P. A.**, Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum. Vol. XII. Pars 1. Index universalis et locupletissimus generum, specierum, subspecierum, varietatum hospitiumque in toto opere (Vol. I—XI) expositorum auctore P. Sydow. 8<sup>o</sup>. 640 p. Berlin (Gebr. Bornträger) 1896. 32 M.
- Sorel, E.**, Etude de quelques champignons utilisables en distillerie. (Journ. de la distillerie franç. 1896. No. 653, 654. p. 585—586, 598—599.)
- Vuillemin, P.**, Les Hypostomacées, nouvelle famille des champignons parasites. (Extr. d. Bullet. de la soc. d. scienc. de Nancy. 1896.) 8<sup>o</sup>. 55 p.
- Westbrook, F.**, A new anaërobic putrefactive bacillus (*Bacillus tachysporus*). (Journ. of pathol. and bacteriol. 1896. July.)
- de Wildeman, E.**, Census Chytridinaearum. (Bullet. de la soc. royale de botan. de Belgique. 1896. Fasc. 1. p. 7—69.)
- —, Observations sur quelques espèces du genre *Vaucheria*. (Bullet. de la soc. royale de botan. de Belgique. 1896. Fasc. 1. p. 71—93.)
- Zopf, W.**, Uebersicht der auf Flechten schmarotzenden Pilze. (Hedwigia. 1896. Heft 6. p. 312—366.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

## Luft und Wasser.

- Gärtner, A.**, Die Dresdener Wasserfrage. (Hygien. Rundschau. 1897. No. 2, 3. p. 57—71, 129—141.)

## Boden.

Abba, F., Orlandi, E. e Rondelli, A., Saggio di esperienze sul potere filtrante dei terreni. (Estr. d. Gazz. med. di Torino. 1896.) 8°. 8 p.

## Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

## Milch, Molkerei.

- Barton, J. K., The value of sterilised milk. (Brit. med. Journ. 1897. No. 1879. p. 14.)  
 Detwiler, B. H., The danger of tubercular infection from cow's milk and its prevention. (Therapeut. Gaz. 1896. No. 10. p. 661—665.)  
 Sacharbekow, M., Zur Bakteriologie der Petersburger Milch. (Shurn. russk. obscht. ochran. narodn. sdraw. 1896. No. 4) [Russisch.]  
 Schottelius, M., Ueber das Wachstum der Diphtheriebacillen in Milch. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 25. p. 897—900.)

## Bier, Brauerei.

Windisch, W., Gärührung, Vergärungsgrad und Haltbarkeit des Bieres. (Webschr. f. Brauerei. 1896. No. 52. p. 1362.)

## Wein, Weinbereitung.

- Neßler, Bereitung und Pflege des Weines und Obstweines. (Jahrb. d. dtsh. Landwirtsch.-Gesellsch. Bd. XI. 1896. p. 192—205.)  
 — —, Ueber stichige Weine. (Weinbau u. Weinhandel. 1896. No. 51. p. 440—441.)

## Straßen.

Wittlin, J., Ueber die Einwirkung der Sonnenstrahlen auf den Keimgehalt des Straßenstaubes. (Wien. klin. Wehschr. 1896. No. 52. p. 1229—1232.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Harmlose Bakterien und Parasiten.

- Masé, Fixation de l'azote libre par le bacille des nodosités des légumineuses. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1897. No. 1. p. 44—54.)  
 Thiel, Mitteilung über die Frage der Leguminosenknöllchen. (Jahrb. d. dtsh. Landwirtsch.-Gesellsch. Bd. XI. 1896. p. 48—52.)

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Altum, Bemerkenswertes Auftreten einiger im Sommer 1896 in der Umgegend von Eberswalde beobachteten Forstinsekten. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1897. Heft 1. p. 44—50.)  
 Black-rot dans le Midi. Rapport de la délégation de la société d'agriculture, science, arts et belles-lettres d'Indre-et-Loire. Nature, causes et remèdes; caractères microscopiques et culture artificielle. 8°. 50 p. 1 pl. Tours (Impr. Dubois) 1896.  
 1 fr.  
 Bordeaux mixture. (Bullet. 38 of the Agricult. experim.-station of the Rhode Island College of Agriculture and mechanical Arts.) 8°. 9 p. Kingston 1896.  
 Crié, L., Rapport sur le dépérissement des pommiers. (Extr. du Bullet. du ministère de l'Agriculture.) 8°. 26 p. Paris (Impr. nation.) 1896.  
 Foer, G. et Viala, P., L'„aureobasidium vitis“ en Russie. (Rev. de viticulture. 1896. No. 153. p. 501—502.)  
 Heck, C. R., Der Weißtannenkrebs. XI, 163 p. Mit Abbildgn. Berlin (Springer) 1897.  
 10 M.  
 Hori, S., On the smut of Japanese cereals. (Tokyo botan. magaz. 1896. pt. 1. p. 213.)  
 Maßregeln gegen den Black-rot in Frankreich. (Allg. Wein-Ztg. 1896. No. 53. p. 524—525.)  
 Mik, J., Eine neue Cecidomyiden-Galle auf Centaurea scabiosa L. (Wien. entomol. Ztg. 1896. Heft 10. p. 292—294.)  
 Perraud, J., Le développement du rot blanc. (Moniteur vinicole. 1896. No. 101. p. 402.)  
 Ráthay, E., Ueber den Black-rot. (Weinlaube. 1896. No. 48—50. p. 566—570, 578—580, 590—592.)



- Ricard, H., Le black rot dans son premier foyer d'invasion, à Val-Marie, près Ganges (Hérault). (Rev. de viticulture. 1896. No. 158. p. 635—636.)
- Roze, E., Nouvelles observations sur la maladie de la gale de la pomme de terre. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 19. p. 759—761.)
- Sajó, K., Die „gommose bacillaire“. (Prometheus. 1896. No. 372—374. p. 113—117, 130—134, 145—150.)
- v. Schilling, Petroleum-Seifenmischung gegen Blattläuse. (Prakt. Ratg. im Obst- u. Gartenb. 1896. No. 30.)
- Speth, Das Auftreten der Rebenschädlinge in der Bürgermeisterei Enkirch a. d. Mosel im Jahre 1896. (Weinbau u. Weinhandel. 1896. No. 52. p. 448—449.)
- Störmer, C., Om en art Puccinia paa Polemonium coeruleum. (Botan. notiser. 1896. Häftet 5. p. 214.)
- Vuillemin, P., Sur l'origine de la lèpre de la betterave. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 19. p. 758—759.)
- Wakker, J. H., De schimmels in de wortels van het suikerriet. II en III. (Arch. v. de Java-suikerindustrie. 1896. afev. 18.)
- Webber, H. J., Melanose of the orange. (Florida farmer and fruit grower. Vol. VII. 1896. p. 419.)
- Wegner, Zur Behandlung der Apfelbäume besonders gegen den Krebs. (Illustr. landwirtschaftl. Ztg. 1896. No. 3. p. 18.)
- Willot, Destruction de l'Heterodera Schachtii. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 23. p. 1019—1020.)
- Zago, F., Malattie delle piante agrarie riscontrate in Polesine nell' anno 1895. Parte I. 4°. 71 p. Rovigo 1897. 1 £.

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Andrtjuschenko, E., Ueber die Wirkung des Airois auf Bakterien. (Wratsch. 1896. No. 36.) [Russisch.]
- Paul, Th. u. Krönig, B., Ueber das Verhalten der Bakterien zu chemischen Reagentien. (Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. XXI. 1896. Heft 3. p. 414—450.)

### Inhalt.

#### Originalmittheilungen.

- Brisi, Ugo, Ueber die Fäulnis der Rebentriebe, durch Botrytis cinerea verursacht. (Orig.), p. 141.
- v. Freudenreich, Ed., Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir. (Orig.) [Schluß], p. 135.
- Hartleb, E. u. Stutzer, A., Das Vorkommen von Bacillus pseudanthracis im Fleischfuttermehl. (Orig.) [Fortsetz.] p. 129.
- Wehmer, C., Kleinere mykologische Mittheilungen. (Orig.) [Schluß], p. 147.

#### Referate.

- Eriksson, J., Welche Grasarten können die Berberitze mit Rost anstecken?, p. 157.

- Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1895. Bearbeitet von Prof Dr. Frank und Prof. Dr. Scharer, p. 156.
- Kayser, M. E. et Barba, M. G., Rapport sur les expériences de vinification faites dans le Gard en 1895, p. 155.
- Kedzier, Ueber eine thermophile Cladothrix, p. 154.
- Marshall, Ueber die Zusammensetzung des Schimmelpilzmycels, p. 154.
- Zukal, Hugo, Myxobotrys variabilis Zuk. als Repräsentant einer neuen Myxomycetenordnung, p. 154.

Neue Litteratur, p. 157.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Willfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg  
herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel**

und

**Prof. Dr. J. H. Vogel,**

Vorsteher der Versuchsstation der Deutschen Landw. Gesellschaft in Berlin.

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 15. April 1897.**

**No. 7/8.**

---

**Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.**

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

---

**Original-Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

**Der Salpeterpilz.**

Von

**A. Stutzer und B. Hartleb.**

**II. Die Morphologie des Salpeterpilzes.**

1) Allgemeine Bemerkungen. Der Salpeterpilz kann leicht aus irgend einem Erdboden gewonnen werden. Man übergießt die Erde in einem geeigneten Gefäße, z. B. in einem mit einer Uherschale lose bedeckten Becherglase oder in einer kleinen Krystallisierschale mit einer Flüssigkeit, welche 1 ‰ Kaliumphosphat und einige ‰

Asparagin (oder eine ähnliche leicht assimilierbare Kohlenstoff- und Stickstoffverbindung) enthält und läßt die Mischung längere Zeit stehen. Das Wachstum des Pilzes wird bei einer Temperatur von 20—30° beschleunigt. Die Erde durchfeuchtet man mit soviel von dieser Flüssigkeit, daß ein Austrocknen der Erde nicht zu befürchten ist. Die nach längerer oder kürzerer Zeit entstehenden Pilzrasen werden in Nährlösung von gleicher Beschaffenheit, wie die bereits verwendete war, übertragen.

Die weitere Züchtung geschieht am besten in Form einer Agarplattenkultur, um mittels dieser, nach bekannten Methoden, zu einer völligen Reinzucht des Pilzes zu kommen. Diesem Nährboden setzen wir bei unseren Versuchen in 5 Versuchsreihen folgende Stickstoffverbindungen hinzu: Asparagin, Pepton, Natriumnitrit, Natriumnitrat, Harnstoff, Ammonsulfat. Der Nährboden enthielt stets 2 Proz. von diesen Verbindungen im gelösten Zustande beigemischt und an Mineralsalzen 1‰ Kaliumphosphat, welches in Leitungswasser gelöst war. Teils ist der Nährboden durch Kaliumkarbonat schwach alkalisch, teils durch Weinsäure schwach sauer gemacht. Die Platten wurden in der ersten Zeit einer Temperatur von 25° C ausgesetzt, später sind sie bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Beobachtungsdauer währte 4—6 Wochen.

Bei anderen Kulturen benutzten wir Gelatine, und zwar eine 10-proz. Lösung derselben in Leitungswasser, ohne weitere Zusätze zu geben. Dieser Nährboden war schwach sauer. Ein Teil der Gelatinenährböden wurde durch Kaliumkarbonat schwach alkalisch gemacht oder in anderen Fällen genau neutralisiert. Endlich sind flüssige Kulturen angelegt. Die Flüssigkeit bestand aus Leitungswasser, welches 1‰ Kaliumphosphat, sehr geringe Mengen von Glycerin und 2 Proz. der oben angegebenen Stickstoffverbindungen gelöst enthielt. Ein Teil der flüssigen Kulturen ist durch Kaliumkarbonat soweit alkalisch gemacht, daß die alkalische Reaktion durch empfindliche Reagentien eben deutlich nachweisbar war. Als Impfmaterial verwendeten wir Kulturen von Platten, und zwar teils Schimmelrasen, teils deren Zerfallsprodukte und Dauerformen. Im ganzen hatten wir mehrere Hundert Kulturen angelegt und teilen weiter unten das wesentlichste unserer zahlreichen Beobachtungen mit.

Beim Wachstume unseres Salpeterpilzes auf einem festen Nährboden entwickelt sich, in gleicher Weise wie bei anderen Schimmelpilzen, im Innern des Nährbodens ein verzweigtes, fadenförmiges Mycelium und ein oberirdischer Rasen, welcher zahlreiche, bei passender Ernährung aufrechtstehende, bei mangelhafter Ernährung kriechende oder sehr kurz entwickelte Hyphen bildet. Die Farbe dieses Pilzrasens ist weiß, bei zunehmendem Alter oder bei mangelhafter Ernährung wird derselbe grau, später braun und schließlich entsteht eine degenerierte Form von Hyphen, welche in ihrer Gesamtheit das Ansehen von kreideweißen Auflagerungen hat.

Eine schwach saure Reaktion des Nährsubstrates ist für die Entwicklung des Salpeterpilzes vorteilhaft, indes gedeiht er auch auf einem schwach alkalischen Nährboden, wenn ihm eine günstige Stickstoffnahrung dargeboten wird. Als solche kann insbesondere

Asparagin und Pepton gelten. Auch Salpeter vermag der Pilz gut zu verwerten. In wässerigen Flüssigkeiten und bei Zufuhr einer leicht assimilierbaren Nahrung bilden sich sehr lange Fäden. Ist die in Wasser gelöste Stickstoffverbindung zur Ernährung des Mycels weniger geeignet, so erscheint dasselbe mangelhaft entwickelt, flockig, zu verhältnismäßig kurzen Fäden vereinigt. Unter gewissen Umständen bildet sich ein äußerst feines, verästeltes Mycel.

Bezüglich der Art der Fruchtbildung, der Fortpflanzung und der Gestalt der Dauerformen finden wir beim Salpeterpilze eine außerordentliche Mannigfaltigkeit und vielleicht größere Abweichungen, als solche bisher bei irgend welchen Fadenpilzen beobachtet wurden. Es kommt eine geschlechtliche und eine ungeschlechtliche Vermehrung vor; Vorgänge, wie sie den höheren Fadenpilzen eigen sind, und andererseits — unter veränderten Lebensbedingungen — die Vermehrungsart der niedrigen Fadenpilze. Die Dauerformen können in Gestalten sich auflösen, welche von Bakterien und den echten Kokken morphologisch nicht zu unterscheiden sind, und haben wir anscheinend hier eine Brücke zwischen höheren Fadenpilzen und den Bakterien. Die außerordentliche Mannigfaltigkeit in den Formen der Organismen war die Thatsache, daß man in der Erforschung des Salpeterpilzes bisher so wenig vorwärts gekommen ist, weil man glaubte, stets verschiedene Lebewesen und unreine Kulturen bei den Untersuchungen vor sich zu haben und weil man den Pleomorphismus des Salpeterpilzes nicht erkannte. Wenn wir nun näher auf die Formen eingehen, wie sie uns in ihrer Verschiedenheit und Mannigfaltigkeit immer wieder in den einzelnen Nährmedien vor Augen traten, ist es notwendig, die Ursachen kurz zu beleuchten, welche die einzelnen Formen bedingen. Es kommen hier vorzüglich zwei Nährmedien in Betracht, der feste Nährboden, bestehend aus Gelatine oder Agar, und der flüssige.

Von Wichtigkeit ist die Art der Stickstoffverbindungen, welche die Nährböden enthalten und ein üppiges oder nur ein kümmerliches Wachstum bedingen, wodurch die eine oder die andere Form vorherrscht. Und als letzter, nicht unwichtiger Faktor kommt die Reaktion des Nährbodens in Betracht. Diese Bedingungen, einzeln oder zusammen genommen, bewirken schließlich, daß der Pilz sich vegetativ fortpflanzt, fruktifiziert oder nur Dauerformen bildet.

Als höchstorganisierte Stufe müssen wir den normalen Thallus des Pilzes betrachten, welcher Hyphen und Mycel erzeugt.

2) Der Thallus. Wir wollen sechs verschiedene Bildungen des Thallus beschreiben, welche jedoch nicht streng voneinander geschieden werden können, indem stets Uebergänge von der einen zur anderen Form stattfinden.

a) Der große weiße Pilzrasen. In der höchst entwickelten Form bildet der Salpeterpilz einen hohen, weißen Pilzrasen mit aufsteigenden, stark verzweigten Lufthyphen. Das Mycel und die Hyphen sind nicht gegliedert und geht das Wachstum in der Weise vor sich, daß die Zelle durch Spitzenwachstum sich verlängert. Später, und namentlich bei Entstehung der Fruchtanlage, geht eine Teilung der schlauchartigen Zelle durch Entstehung von Querwänden vor sich,

so daß ein regelmäßig gegliederter Thallus entsteht. Diese Teilung der Hyphen geschieht auch stets beim Wachstume derselben in einem flüssigen oder halbflüssigen Nährboden. Der weiße Pilzrasen hat keine Fruchträger und keine Sterigmen, sondern bildet an den Hyphen viele, die Sporen enthaltenden Zellsaftkugeln ohne Fruchträger. Die Kugeln sind stark lichtbrechend. Der weiße Pilzrasen gedeiht am besten, wenn der Nährboden schwach sauer ist und sowohl leicht assimilierbare Kohlenstoff-, wie auch gute Stickstoffverbindungen enthält (z. B. auf Gelatinegallerte). In dem dicht an der Oberfläche liegenden Mycel fand nach unseren Beobachtungen in älteren Kulturen, und zwar vorzugsweise auf alkalischem Nährboden, eine starke Querteilung und endogene Sporenbildung statt. Die ausgetretenen Sporen lagen häufig neben dem Mycel, sie waren im gefärbten Zustande nur  $0,2 \mu$  groß und bildeten kleine Kolonien nach Art der *Zoogloea ramigera*. Bei weiter zunehmendem Alter des Mycels bleibt es nicht bei der erwähnten Bildung von Querwänden und der endogenen Sporenbildung unter Schwindung der Membran der Pilzfäden, sondern der ganze Thallus zerfällt hin und wieder unter reichlicher Gemmenbildung, in einzelne Teile, die sich oval abrunden können und als lebensfähige Individuen weiter wachsen. Nicht selten beobachtet man eine seitliche Verschiebung dieser großen, ovalen Gemmen, trotzdem die ursprüngliche Form der Hyphen noch erkennbar ist.

b) Der große graue Pilzrasen. Bei zunehmendem Alter und der damit verbundenen Erschöpfung des Nährbodens oder bei Mangel des Nährbodens an leicht aufnehmbaren Kohlenstoffverbindungen bildet sich ein grauer Pilzrasen, z. B. auf Agargallerte, welche geringe Mengen von Asparagin beigemengt enthält. An dem grauen Pilzrasen, welcher aus dünnen Hyphen und dünnen Mycelfäden besteht, bilden sich außerordentlich zahlreiche Fruchthyphen mit Konidien. Die Anordnung der Konidien erfolgt meist kettenförmig, jedoch auch in anderer Form, z. B. nach Art der Fruchtbildung von *Penicillium*. Kopulationen der Fruchthyphen kommen oft vor, namentlich auf schwach sauerem Nährboden. Durch die Auskeimung der Konidien entsteht ein sekundärer Thallus (s. d.).

c) Der Thallus in flüssigen Nährböden. In den flüssigen Nährböden wechseln die Formen des Thallus und die Dauerzustände des Salpeterpilzes weniger, als auf festem Boden, jedoch ist der Einfluß der verschiedenen Stickstoffverbindungen auch hier unverkennbar.

Die Mycelfäden entwickeln sich sehr kräftig, sobald den Pilzen eine günstige Kohlenstoffverbindung und eine gute Stickstoffnahrung zur Verfügung steht. In neutralen Flüssigkeiten, welche Pepton oder Asparagin oder Salpeter mit Glycerin enthalten, sind die Mycelfäden nicht selten  $4 \mu$  breit. Auch in schwach alkalischen Flüssigkeiten bildet sich ein kräftiges Mycel, sobald dem Pilze Kohlenstoff und Stickstoff in leicht assimilierbarem Zustande genügend geboten wird. Ist nach einer längeren Vegetationsdauer der Nährboden teilweise erschöpft oder giebt man von Anfang an eine schlecht aufnehmbare Stickstoffsubstanz (z. B. Harnstoff oder Ammonsulphat)

oder ist Mangel an Kohlenstoffverbindungen vorhanden, so sind die Mycelfäden wesentlich dünner, kürzer und oft Zoogloea-artig zusammengelagert. Das dünne Mycel zerfällt teilweise in Stäbchen und in Sporenschläuche (Gemmen und Asci).

Die Fortpflanzung der Pilzfäden im flüssigen Nährboden geschieht in geschlechtlicher und in ungeschlechtlicher Weise. Wir sehen Oogonien und Antheridien. Insbesondere in älteren Kulturen von neutraler Reaktion kann man zahlreiche Kopulationen von Mycelfäden, sowie die Entstehung von Zygosporien beobachten. Entsprechend der Konidienbildung auf festem Nährboden mit Makrokonidien an den Lufthyphen haben wir hier einen ähnlichen Vorgang. Die Sporangien liegen teils direkt am Mycel auf ganz kurzen Polstern, teils sind sie an einem Fruchträger befestigt. Oft findet man Haufen von Sporangien nach Art einer Zoogloea vereinigt. Diese enthalten kleine ovale oder längliche Sporen.

Am Ende des Mycelfadens sieht man häufig, namentlich in schwach alkalischen Flüssigkeiten, eine große runde Kugel, welche ein geschlossenes Sporangium darstellt. Die Kugel kann entweder nach Auflösung des Mycelfadens abgeschnürt werden, hat dann lebhafteste Bewegung und wächst später zum Mycel aus, oder es verbleibt dieses Sporangium am Mycelfaden und die darin enthaltenen Mikrosporen erzeugen Sporenschläuche. Aus den letzteren werden die Sporen frei. Hin und wieder findet man in der Flüssigkeit (namentlich bei Gegenwart von Pepton oder Asparagin und schwach alkalischer Reaktion) freie Sporangien von 4–35  $\mu$  Durchmesser, welche kleinere Sporen enthalten, die zum Teil stark lichtbrechend sind. Die Mycelfäden zerfallen in Sporenschläuche (1–2,5  $\mu$  breit, 4–12  $\mu$  lang) und diese wieder in Kokken (0,2–0,5  $\mu$  groß). Beide Formen haben eine lebhafteste rotierende oder wälzende Bewegung. Die Kokken (= Sporen) liegen häufig zu zweien zusammen. Daneben findet man große Makrosporen, welche stark lichtbrechend sind und ähnlich wie Öeltropfen aussehen, sowie Schläuche von verzerrter, unregelmäßiger Form.

Vorstehende Mitteilungen beziehen sich auf das Wachstum des Salpeterpilzes in Flüssigkeiten, welche die Stickstoffverbindungen in leicht aufnehmbarer Form enthalten. Ist dies nicht der Fall, so wird der Stickstoff als Natriumnitrit, als Harnstoff oder als Ammonsulphat gegeben, so sind die Mycelfäden dünner, eng zusammengelagert, die Bildung der unmittelbar am Mycel anliegenden Sporangien erfolgt sehr reichlich, die sich abtrennenden Schläuche sind halb so groß, als in einem Nährboden, welcher Asparagin enthält. Bei der Ernährung mit Natriumnitrit sahen wir nicht selten 4 Mikrosporen reihenförmig in einem gemeinsamen Schlauche liegend, daneben ovale Kokken des Nitritbildners 1,5  $\mu$  dick und 2  $\mu$  lang.

In älteren Kulturen findet unter Auflösung des alten Mycels eine starke Degenerierung des letzteren zu Sklerotium-ähnlichen Bildungen statt und besteht z. B. in Harnstofflösungen die ganze Mycelmasse schließlich nur aus solchen Zusammenlagerungen mit zahlreichen Gemmen. In einem schlechten Nährboden sind die Fäden dieses Sklerotiums um  $\frac{1}{8}$  dünner, als bei guter Ernährung.

d) Der sekundäre Thallus. Durch Auskeimung von Konidien entsteht auf den Agarplatten ein Thallus, welcher aus äußerst feinen Fäden besteht, die verhältnismäßig große Fruchtsände bilden.

e) Graubrauner Pilzrasen. Auf Agarplatten mit Zusatz von Harnstoff oder von Ammonsulfat oder von Natriumnitrit als Stickstoffnahrung, hin und wieder auch auf Nitritagarplatten, bildeten sich nach längerer Zeit graubraun gefärbte Schimmelrasen. Der Thallus ist äußerst dünn, hat stark verzweigte Hyphen, welche ungefähr halb so breit sind, als diejenige des weißen Pilzrasens. Die Lufthyphen bestehen meist aus einem einzigen langen Faden, der an verschiedenen Stellen kurze Konidienträger erzeugt, von dem sich Konidien abschnüren. Wegen der Kürze der Sporenträger hat es häufig den Anschein, als ob die Sporen direkt aus den Lufthyphen hervorgingen. Die Sporangien haben nur Mikrokonidien. Das Mycel hat eine bräunlich-graue Farbe und entsteht, wenn man Makrokonidien des weißen Pilzrasens auf einen Agarnährboden überträgt, welcher nur schwer assimilierbare Stickstoffverbindungen (Harnstoff, Ammonsulfat, Natriumnitrit) enthält. Die Bildung des graubraunen Pilzrasens geht besser bei saurer, als bei alkalischer Beschaffenheit des Nährbodens vor sich.

Die Loslösung der Konidien geschieht in der Weise, daß beiderseits, kurz vor der Basis des Sporangienträgers der Zellinhalt der Hyphe zurücktritt, wodurch die sonst dunkel erscheinende Hyphe (bei Betrachtung mit dem Mikroskope) durchsichtig wird.

Nach erfolgter Schrumpfung der entleerten Membran findet die allmähliche Auflösung derselben statt und die frei gewordenen Sporen lagern sich zu einem runden Haufen zusammen, sie umgeben sich mit einer Membran und bilden — einen Nährboden mit günstig wirkenden Stickstoffverbindungen vorausgesetzt — eine runde oder ovale Zoogloea als Kolonie, die aus runden oder ovalen Makrokokken besteht, welche durch Teilung der in den Konidien gebildeten Sporen hervorgegangen sind.

Verbleibt solche Kolonie auf dem ursprünglichen Nährboden, so wird aus den organischen Stickstoffverbindungen Nitrit und es geht eine regelmäßige Teilung der in der Zoogloea enthaltenen Makrosporen vor sich. Die neu gebildeten Zellen werden bei fortgesetzter Teilung kleiner, bis man schließlich zu Mikrosporen von solcher Kleinheit gelangt, daß diese einer weiteren Teilung nicht mehr fähig zu sein scheinen.

Die von den Sterigmen losgelösten Konidien keimen zu dünnen, kurzen, wenig oder gar nicht verzweigten Mycelfäden aus. Viele solcher Fäden, deren Richtung je nach dem Wachstum und der Lage der ursprünglichen Sporen verschieden angeordnet ist, lagern sich eng zusammen und erzeugen nun die nachfolgend erwähnten kreideweißen Auflagerungen.

f) Die kreideweiße Auflagerung. Die Entstehung dieser Gebilde, welche durch eine auffallend weiße Farbe sich kennzeichnen, haben wir soeben erwähnt. Noch häufiger entstehen die Auflagerungen im Thallus der weißen, bzw. grauen Pilzrasen, und zwar im Mittelpunkt desselben, wo die Sporenbildung am ergiebigsten und die

stickstoffhaltige Substanz des Nährbodens am frühesten erschöpft ist. Die Sporenketten lagern sich vor ihrer Loslösung sehr dicht zusammen, es erfolgt keine Umhüllung der Sporen mit einer Membran, zum Zweck der Bildung eine Zoogloea bezw. Kolonie, sondern es findet durch Auswachsen der Sporen die Bildung der Hyphen in Form der kreideweißen Auflagerungen statt.

Eine andere Bildungsstätte können wir auf Agarnährboden in älteren Kolonien von wasserklarer oder von bläulicher irisierender Farbe beobachten. Im letzteren Falle sieht man nicht selten am Rande der Kolonie die kreideweiße Auflagerung zunächst als kranzförmige Umwallung derselben.

Die kreideweiße Auflagerung ist die niedrigste Form der Mycel- und Hyphenbildung.

Die Hyphen sind nicht fruktifikationsfähig. Sie zerfallen später in Stäbchen bezw. Schläuche, in denen Mikrosporen sich erzeugen, welche Sporen meist an beiden Enden als ovale oder runde Kokken sichtbar sind. Wiederholt wurde auch ein Zerfall der Hyphen direkt in kleine Kokken von  $0,6 \mu$  Durchmesser ohne Zwischenformen beobachtet. Die Mikrosporen wachsen zu Schläuchen aus und bilden neue Mikrosporen, welche mit zunehmender Erschöpfung des Nährbodens an brauchbaren Stickstoffverbindungen immer kleiner werden. Züchtet man diese Dauerform in einem ungünstigen Nährboden lange Zeit fort, so behält sie ihre Formen schließlich unverändert bei, sobald eine gewisse Kleinheit der Form erreicht ist.

Andererseits ist es möglich, durch Uebertragung der kreideweißen Auflagerung in einen sehr günstigen, schwach sauren Nährboden, wieder zu höher organisierten Formen und schließlich zum richtigen Schimmelrasen zu gelangen.

Eine auffällige Thatsache verdient an dieser Stelle hervorgehoben zu werden.

Waren die Hyphen der kreideweißen Auflagerungen längere Zeit in dem ungünstigen Nährboden fortgezüchtet und nun in schwach alkalisch reagierende Gelatine übertragen, so geht eine Formveränderung vorsich. Wir erhalten jetzt Organismen, welche von *Cladothrix* sich nicht unterscheiden. Werden dagegen die Hyphen der kreideweißen Auflagerungen in einen günstigen, schwach sauren Nährboden übertragen, so bildet sich bei weiteren Uebertragungen, wie schon erwähnt, der gewöhnliche Schimmelrasen unseres Salpeterpilzes.

Die kreideweiße Auflagerung unseres Pilzes stellt somit eine äußerst wichtige Entwicklungsperiode desselben dar, weil man von hier aus leicht zu 3 sehr verschiedenen Formen von Organismen gelangen kann: zu Bakterien, zum Schimmelpilz und zur *Cladothrix*.

Bezüglich der *Cladothrix* bemerken wir noch, daß, wenn sie längere Zeit auf denselben Nährboden fortgezüchtet wird, bei Erschöpfung des Nährbodens sie schließlich in Kokken und Stäbchen zerfällt, welche morphologisch sich nicht von den aus dem Pilzrasen erzeugten kleinen Organismen unterscheiden und dieselben nitrifizierenden Eigenschaften haben.



g) Sproßmycel. Die Sproßbildung geht in der Weise vor sich, daß eine als Spore fungierende Zelle statt eines oder statt mehrerer Keimschläuche entweder endständig oder seitlich Ausstülpungen bildet, welche sich zu rundlichen oder zu langen Zellen vergrößern und durch eine Querwand von der Mutterzelle abgrenzen. Zusammenlagerungen solcher Sproßzellen bilden dann Sproßverbände oder Sproßmycel. Die Teile desselben sind gewöhnlich nur durch eine schmale Scheidewand voneinander getrennt und können leicht völlig losgelöst werden. Sie sind dann selbständige Gebilde, welche zu Kolonien auswachsen und durch endogene Sporenbildung sich vermehren oder zu einem wirklichen Thallus auswachsen können.

Das Sproßmycel fanden wir vorzüglich gut in einem Gelatine-nährboden entwickelt, welcher alkalisch reagierte und Pepton beigemischt enthielt, und zwar am Boden der Kulturschalen. Außerdem bildet es sich regelmäßig in Flüssigkeiten, welche mit Pilzrasen geimpft wurden und den Stickstoff als Natrium- oder Kaliumcarbonat enthalten. In diesem Falle sind die einzelnen Glieder des Sproßmycels in so losem Verbande, daß es bei Anfertigung von Trockenpräparaten kaum gelingt, den Zusammenhang des Mycels zu erkennen, man hat dann meist nur die einzelnen Glieder vor sich, welche kleine stäbchenförmige Sporenschläuche darstellen. Fügt man zu einer solchen Kultur eine gute organische Kohlenstoffverbindung, z. B. Glycerin, hinzu, so werden bei beschränktem Luftzutritt unter Gasentwicklung die einzelnen Teile gehoben und bilden an der Oberfläche der Flüssigkeit ein schaumartiges Sproßmycel. Unser Salpeterpilz kommt also in dieser Beziehung den Hefearten nahe.

Ueber Sproßmycel siehe auch Zopf, Die Morphologie und die Physiologie etc. p. 7, 402, 411.

h) Das feine Mycel nach Art von *Streptothrix*. Bei einer gewissen Beschaffenheit des Nährbodens, und namentlich bei Mangel an leicht assimilierbarer Stickstoffnahrung kann der Salpeterpilz Formen annehmen, die mit denjenigen der *Streptothrix* übereinstimmen, welche letztere bekanntlich den Uebergang von den Fadenpilzen zu den Bakterien bilden<sup>1)</sup>. Dieses Mycel haben wir teils bei zunehmender Erschöpfung des Nährbodens, teils dann beobachtet, als wir die kleinsten Bakterien und die Mikrokokken, also die letzte Stufe in der Entwicklung des Salpeterpilzes, in eine Nährlösung brachten, welche den Stickstoff als Nitrit und den Kohlenstoff in günstiger Form, nämlich als Glycerin enthielt. Die üppig sich entwickelnden Bakterien wurden nun in saure Gelatine übertragen (10 Proz. Gelatine in Leitungswasser gelöst), Platten gegossen und das Wachstum der Organismen auf den Platten beobachtet. Es entwickelt sich hier, neben anderen Formen, ein Mycel, welches im gefärbten Zustande einen Durchmesser von  $0,2\ \mu$  hatte und später wieder in Stäbchen zerfiel. Das Mycel nach Art von *Streptothrix* ist stark verästelt und sind die Fäden durch Kopulation in spitzen und rechten Winkeln miteinander verbunden. Im Gegensatz zur *Cladothrix* ist die Kopulation also eine echte.

1) Siehe Flügge, Die Mikroorganismen. Bd. II. p. 48, bearbeitet von Dr. Kruse.

Hier und da erheben sich Fruchthyphen in die Luft und zerfallen, wie Oidien, in Ketten von Konidien, welche direkt kleine Stäbchen erzeugen, ohne andere Formen zu bilden.

3) Die Fortpflanzung nach Art von Schimmelpilzen. Sobald der Schimmelpilz bis zu einer gewissen Entwicklungsperiode gelangt ist, schreitet er zur Bildung von Fortpflanzungsorganen. Wir haben diese zum Teil vorstehend bereits erwähnt, glauben jedoch nochmals eingehender mit denselben uns beschäftigen zu sollen.

Die genannten Organe bilden sich vorzugsweise in der Zeit, in welcher durch das Wachstum des Pilzes eine Veränderung und eine teilweise Erschöpfung des Nährbodens eingetreten ist, welche die Fortexistenz des Organismus bedroht. Die Fortpflanzungsorgane erzeugen in bekannter Weise Dauerformen, welche die Vernichtung des Pilzes hindern, indem sie später, unter geeigneten Bedingungen, zu neuen Individuen auswachsen. Die letzten Erzeugnisse der Fortpflanzungsvorgänge sind die Sporen, welche je nach der Größe als Makro- und Mikrosporen unterschieden werden können.

a) Geschlechtliche Fortpflanzung. Eine bekannte Art der geschlechtlichen Fortpflanzung ist die Bildung von Oogonien und Antheridien an den Hyphen. Durch Zusammenlagerung der genannten beiden Organe entstehen als Produkte die Oosporen. Letztere umgeben sich mit einer Membran, sind kugelförmig, erzeugen in ihrem Innern Sporen und wachsen diese entweder zu einem neuen Thallus aus, oder bilden wieder Sporen. Diese Fortpflanzung ist an den Hyphen in flüssigen und halbflüssigen Nährböden, seltener auf Agar, bei Gegenwart leicht aufnehmbarer Stickstoffverbindungen oder in halbverflüssigter schwach saurer Gelatine zu beobachten.

b) Ungeschlechtliche Fortpflanzung. Bei der ungeschlechtlichen Fortpflanzung haben wir verschiedene Vorgänge zu unterscheiden, welche ebenfalls von der Beschaffenheit des Nährbodens und namentlich von der Art der darin enthaltenen Stickstoffverbindungen abhängig sind. An den Hyphen kommt am häufigsten die Konidienbildung vor. Die Konidien sitzen selten direkt an den Hyphen, sondern meist an besonderen Konidienträgern, an deren Scheitel entweder schlauchartige Ansätze auswachsen, aus denen sich die auf Sterigmen sitzenden Konidien abschnüren. Oder es wird am Ende des Trägers ein Sporangium gebildet. Auch findet ein seitliches Auswachsen der Sporangien statt.

Das Freiwerden der reifen Konidien kann durch Abschnürung der einzelnen, bisher verbunden gewesenen Konidien erfolgen, unter Resorption der verbindenden Membran, oder durch Abschleuderung in der bei Schimmelpilzen bekannten Weise. Im letzteren Falle wird das einzelne Sporangium oder die am Scheitel des schlauchförmigen Konidienträgers aufsitzende Konidienkette durch eine Querwand vom Träger abgegliedert. Letzterer schwillt durch Turgor an, ohne daß ein Längenwachstum an der Spitze stattfindet, da diese Art des Wachstums durch die trennenden Querwände unmöglich gemacht wurde. Endlich zerreißt die Membran der Querwand oder es findet eine plötzliche Lostrennung des Trägers von der kugeligen Spore

statt, welche letztere durch den nachströmenden Zellinhalt eine gewisse Strecke weit fortgeschleudert wird.

Auf festen Nährböden findet man den Schlauch des Konidienträgers dann meist mit dem zu einer Kolonie sich entwickelnden Sporangium, bezw. dem Sporenhaufen, nicht zusammenliegend. Später wird die Membran des erwähnten Schlauches vollständig aufgelöst und verschwindet dieser Schlauch. Man bemerkt dann nur noch die zu einer wirklichen Kolonie ausgewachsenen Sporen als ein einheitliches Ganzes (siehe Abschnitt 5) an der aber zunächst noch die ehemalige Zusammenlagerung der Konidien (falls die Kolonie aus einer Anzahl von Konidien und nicht aus einer einzigen entstanden ist) und die Stelle des geschwundenen Konidienschlauches durch eine hier stattgefundene Einschnürung zu erkennen ist.

Die Gestalt und die Anordnung der Sporangien ist sehr verschieden, je nach dem Alter der Plattenkultur und den hierbei verwendeten organischen Nährstoffen. Wir halten auf Grund unserer bei dem Salpeterpilz gemachten Erfahrungen eine systematische Trennung irgendwelcher Schimmelpilze, die durch die Formen der Fortpflanzung allein bedingt werden sollen, für kaum möglich. Bei unserem Pilz haben wir durch Uebertragung desselben Organismus in Nährmedien mit verschiedenen Stickstoffverbindungen so mannigfaltige Sporangienformen erhalten, und wurde die Wandelbarkeit allein durch die Verschiedenheit in der Ernährungsweise des Pilzes bedingt.

Ob und wieweit diese Erfahrung bei anderen Schimmelpilzen zutrifft, lassen wir dahingestellt, indem Versuche mit anderen Schimmelpilzen von uns nicht gemacht wurden.

Wir fanden nicht nur die Fruchtform wie bei *Penicillium*, wo lange Konidienketten teils einzeln, teils zu mehreren an einer langen Fruchthyphse befestigt sind, sondern auch die Form, wie sie dem *Mucor corymbifer* eigentümlich ist, nämlich die Anordnung der Konidien auf einem gemeinschaftlichen Polster, so daß die Fruchtbildung mit einer Kompositenblüte verglichen werden kann. Ferner fanden wir den Blütenstand der Cruciferen und die wirtelförmige Form oft in prachtvoll regelmäßiger Ausbildung, wie solche *Acrostalagmus cinnabarinus* eigen ist. Auch Trugdolden kommen vor. Auf einer gemeinschaftlichen Hyphe, die der Spindel der Trugdolde entspricht, sind wechselständig kürzere Sporangienträger gewachsen, an denen sich nur eine große Konidie entwickelt. Am Ende dieser gemeinschaftlichen Hyphe wächst ebenfalls nur eine Konidie. Außerdem kommen noch andere, bei Schimmelpilzen uns nicht bekannte Formen vor, die eine gewisse Ähnlichkeit mit *Arthrobotrys oligospora* haben, indem große Konidien, die bei späterer Entwicklung eine deutliche Zweiteilung durch Bildung einer Querwand erfahren, direkt an der gemeinschaftlichen Fruchthyphse ansitzen.

Eine Anordnung der Konidien in der Weise, wie sie bei *Penicillium glaucum* stattfindet, sieht man auf den Agarplatten, welche mit dem Schimmelpilz geimpft wurden, außerordentlich häufig, insbesondere wenn der Nährboden schwach sauer ist und dem Agar eine gut wirkende Stickstoffverbindung zugesetzt wurde (Pepton, Asparagin). Indes auch bei Gegenwart von solchen Stickstoff-

verbindungen, welche als minderwertig für den Schimmelpilz gelten müssen, wie z. B. Harnstoff u. dergl., bildet sich oft auf den Agarplatten die *Penicillium* fruchtform. Noch häufiger sind die Konidien als einzelne lange Ketten oder rosenkranzförmig an den Fruchthyphen befestigt, insbesondere am sekundären Thallus. Fruchtstände nach Art von *Aspergillus* findet man oft auf Agarplatten bei Vorhandensein einer leicht aufnehmbaren Stickstoffverbindung.

Die Fruchtbildung wie bei *Mucor corymbifer*<sup>1)</sup>, also ähnlich einer Kompositenblüte, kommt bei der Züchtung des Salpeterpilzes häufig vor, z. B. auf alkalischen Agarplatten, welche den Stickstoff in Form von Natriumnitrit enthalten. Bei unserem Salpeterpilz waren die betreffenden Fruchthyphen nicht aufrecht, sondern lagen sehr langgestreckt auf dem Nährboden. Sie hatten eine Breite von ungefähr  $\frac{3}{4} \mu$ . Die Fäden, welche hiervon sich abzweigten, waren ungefähr  $2 \mu$  dick. Der Fruchtkörper hatte einen Durchmesser von 5, selten von 6  $\mu$ . Die Hyphen schwanden bei der weiteren Entwicklung der Frucht, ließen die Konidien in einen Haufen zurück, welcher häufig eine Kugel bildete, die später in ovale, stark lichtbrechende Kokken von ungefähr 1,5–2  $\mu$  Durchmesser zerfiel.

Wirtelförmige Fruchtstände, oft prachtvoll symmetrisch ausgebildet (wie bei *Acrostalagmus cinnabarinus*), erscheinen vorzugsweise auf einem Nährboden von sauerem Asparaginagar, jedoch erst nach Verlauf von ungefähr 4 Wochen.

Fruchtstände nach Art einer Trugdolde kamen ebenfalls erst nach längerer Zeit auf den Agarplatten zum Vorschein und zwar sowohl bei günstiger Stickstoffnahrung (Pepton, Asparagin), wie auch bei Gegenwart von minderwertigen Stickstoffverbindungen (Ammonisulfat). Der Nährboden war schwach sauer.

Traubenförmige Fruchtstände beobachteten wir am sekundären Thallus auf sauren und auf alkalisch reagierenden Agarplatten nach Verlauf von 4 Wochen, jedoch nur auf Nährböden, die einen Zusatz von Pepton oder von Asparagin empfangen hatten. Wir lassen dahingestellt, ob diese Form sich bei Vorhandensein anderer Stickstoffverbindungen nicht ebenfalls bilden kann.

### III. Die Bildung von Mikrokonidien.

Eine kleinere Form der Fruchtbildung ist die Mikrokonidienbildung auf schlechtem Nährboden. Es entwickeln sich keine besonderen Fruchthyphen, sondern die Konidien werden an verschiedenen Stellen des feinen Thallus erzeugt. Sie haben in der Regel nur ein ganz kurzes Fruchtpolster, es wird meist nur eine Konidienkette abgeschnürt, die sich in Wirtelform nebeneinander lagern.

Die Mikrokonidien beobachteten wir auf verschiedenen alten Agarplatten, insbesondere auf solchen, welche alkalisch waren, Pepton oder Asparagin als Stickstoffsubstanz enthielten und bei denen als Impfmateriale die kleinste Form der Mikroorganismen verwendet war.

Die Bildung von Zygosporien durch Verbindung von Hyphen

1) Eine gute Abbildung dieser Fruchtform findet man in Flüge, Die Mikroorganismen. Bd. II. p. 11.

ist eine allgemeine und zwar sowohl in flüssigen Nährböden (Stickstoffnahrung: Asparagin, Pepton), wie auch im festen (Asparaginagar) und im halbfesten Nährboden (Gelatine) sehr häufig von uns beobachtet.

Die Kopulation der Hyphen kommt fast unter allen Ernährungsbedingungen, am häufigsten auf einem Nährboden vor, welcher solche Stickstoffverbindungen enthält, die keine besonders günstige Nahrung für diese Organismen darbieten.

Die Zygosporen bilden in sehr günstigem Nährboden große, runde Sporen (= Kokken), bei minder günstigen kleine Kokken und Stäbchen.

#### IV. Sporangien in Form stark lichtbrechender Kugeln.

Diese bilden sich an den Hyphen des weißen und des grauen Schimmelrasens und kommen in folgender Weise zustande.

Aus den Hyphen wird bei reichlicher Zufuhr von Nahrung der Turgor des Fadens so sehr gesteigert, daß bei der Anlage von Sporangien die Zellenwand des Mycels von dem Zellinhalt durchbrochen wird. Die Sporen sammeln sich in dem zur Kugel geformten Zellsaft und lösen sich später als Kugel von den Hyphen ab.

Bei der Herstellung von Präparaten findet man, daß die Kugel anfangs keine feste Membran hatte und enthält diese Sporen von ungefähr 1  $\mu$  Durchmesser. Sobald der Pilzrasen grau geworden ist und zahlreiche echte Konidienfrüchte sich gebildet haben, entsteht durch Auswachsen der erwähnten 1  $\mu$  großen Kokken ein dünnfadiger Thallus, welcher bei der zunehmenden Erschöpfung des Nährbodens den Uebergang zu dem Thallus der kreideweißen Auflagerung und zum sekundären Thallus bildet (s. 2 d. und f). Die großen, stark lichtbrechenden Kugeln sind somit Sporangien, welche nicht an Fruchthyphen befestigt sind und keine gemeinschaftliche Membran besitzen, sondern in einer Flüssigkeit frei schwimmende Sporen enthalten.

Sie dürften morphologisch in naher Beziehung zu den Sporangien des Wasserkugelpilzes von Lindner<sup>1)</sup> stehen, unterscheiden sich von diesen jedoch dadurch, daß die Kugeln meist seitlich von den Fruchthyphen sich befinden und so stark lichtbrechend sind, daß man die im Inneren befindlichen Sporen nicht direkt sehen kann.

#### V. Peritheccien.

Die Bildung von Peritheccien ist seltener von uns beobachtet. Diese entstanden bei unseren Versuchen auf schwach alkalischem Agarnährboden, welcher Natriumnitrit als Stickstoffsubstanz enthielt. An einem dünnen Mycel entwickelten sich ungefähr 3  $\mu$  lange Fruchthyphen und hatten die Peritheccien einen Durchmesser bis zu 2  $\mu$ . Die Formen entsprechen genau der Abbildung, wie solche von de Bary<sup>2)</sup> für *Aspergillus glaucus* angegeben ist.

1) P. Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. p. 163.

2) de Bary, Morphologie und Physiologie der Pilze. 1884. p. 81.

## VL Die Bildung von Chlamydosporen von Gemmen und die Anschwellung von Gliedern der Pilzfäden.

Die bei anderen Fadenpilzen beobachtete Anschwellung von Gliedern und die Abschnürung derselben kommt auch beim Salpeterpilz hin und wieder vor, z. B. beobachteten wir solche auf alkalischen, 4 Wochen alten Nitritagarplatten, ferner in flüssigen Nährböden, in denen die Chlamydosporen plötzlich eine sehr gute Kohlenstoff- und Stickstoffnahrung erhalten hatten. Eigentümlich gegliederte Hyphen, deren Glieder als große, aneinander gelagerte Kokken betrachtet werden können und somit eine Gemmenbildung darstellen, sahen wir auf alten Asparaginagarplatten (Reaktion des Nährbodens alkalisch). Die Glieder hatten später lichtbrechende Eigenschaften und erzeugten im Inneren zahlreiche kleine, jedoch auch größere, runde Sporen. Später wird die Membran resorbiert und die Kokken in Freiheit gesetzt. (Aehnliche Formen der Hyphen kommen bei *Erysiphe communis* und *Oidium lactis* vor.)

Die Gemmenbildung, wie solche beispielsweise von de Bary<sup>1)</sup> beschrieben ist, kommt sehr häufig beim Salpeterpilz, namentlich in flüssigen Nährböden vor.

## VII. Die endogene Sporenbildung unter Zerfall des Thallus.

Als eine besondere Art der Fortpflanzung müssen wir noch die endogene Sporenbildung nennen, welche in hervorragendem Maße beim Salpeterpilz beobachtet wird. Der Zerfall findet unter Bildung von Kokken, Sporenschläuchen und Stäbchen, welche meist stark beweglich sind, nach vorheriger Bildung von Gemmen oder Chlamydosporen statt.

## VIII. Die Verbreiterung der Pilzfäden durch Gemmenbildung.

Bei der Kultur auf festem Nährboden (Agar, Gelatine) zerfällt das Mycel bzw. die Hyphen in Stücke, indem gleichzeitig durch Gemmenbildung eine Verbreiterung dieser Stücke stattfindet, welche vielleicht den ersten Anlaß zur Bildung einer *Zoogloea ramigera* geben können. Z. B. wurde diese Verbreiterung auf einer 4 Wochen alten Asparaginagarplatte (Reaktion des Nährbodens alkalisch) beobachtet, für welche als Impfmateriel die kleinste Form der Stäbchen gedient hatte.

4. Die Bildung von Kolonien nach Art von Bakterien. a) Kolonien auf Agar, aus einer Zusammenlagerung von Konidien oder aus einem Sporangium entstanden. Die zusammengelagerten Konidien, bzw. die ganzen Sporangien der verschiedenartigsten Fruchtstände können die Entstehung von Kolonien veranlassen. Die Gestalt der Kolonien ist bei vorheriger zufälliger Zusammenlagerung mehrerer Konidien, bzw. wenn eine ganze Sporangie Anlaß zur Koloniebildung gab, eine ver-

1) de Bary, Morphologie u. s. w. p. 167.

schiedene. Nicht selten beobachtet man eine gewölbte Form, welche je nach der Anzahl der im Sporagium vorhanden gewesenen Sporenanlagen eine verschiedene Farbe und eine ungleiche Durchsichtigkeit der Kolonie bedingt. Sehr oft erscheinen die Oberflächenkolonien, bei Betrachtung mit unbewaffnetem Auge im jugendlichen Zustande bräunlich, nach einiger Zeit gelblich, später wird die Farbe rosa und alte Kolonien sind meist wasserhell und farblos. Die verschiedenen Farbenreflexe sind wesentlich durch die Art und die Gruppierung der in den Kolonien enthaltenen, nicht gleichartigen Zellen bedingt. Ferner ist es nicht gleichgültig, ob die Kolonie an der Oberfläche oder in der Tiefe liegt. Letztere werden nie farblos. Es sei hier die Bemerkung eingeschoben, daß die Veränderung der Farbe von den Kolonien des Salpeterpilzes (und zwar sowohl der aus einer, wie aus vielen Sporen hervorgegangenen Kolonien) bei unseren früheren Versuchen uns viele Mühe und Zeitverluste verursacht haben. Wir standen, nach Maßgabe der Untersuchungen von Winogradsky, auf dem Standpunkte, daß der nitrifizierende Organismus in gleicher Weise wie andere Bakterien, eine einheitliche Form und eine gleiche Farbe der Kolonien auf einem und demselben Nährboden immer haben müsse. Der Verschiedenheit der bei den Reinzuchtversuchen auf den Platten (insbesondere auch auf den Kieselgallerplatten) hervortretenden Farben der Kolonien, sowie die wechselnden Formen der darin enthaltenen Organismen veranlaßten uns, die Reinzuchtversuche immer weiter zu treiben, um zu einer den üblichen bakteriologischen Ansprüchen genügenden Uebereinstimmung der Formen, der Farbe und des Inhalts der Kolonien zu gelangen. Wir glaubten nicht an einen Pleomorphismus dieser Gebilde. Erst als wir uns von der Vielgestaltigkeit und Veränderlichkeit der Formen überzeugten, fanden wir eine Erklärung für die so verschiedene Beschaffenheit der Kolonien und für die Thatsache, daß wir bei den Reinzuchtversuchen auf so große Schwierigkeiten gestoßen waren.

Die Kolonien enthalten Kokken (Makrosporen, Mikrosporen) und Sporenschläuche mit Sporen.

Die Kokken sind meist rund oder oval, jedoch können sie, wenn als Makrosporen vorhanden, bei beginnender Austrocknung des Nährbodens und der dadurch bedingten engeren Zusammenlagerung der Sporen, eine polyedrische Gestalt annehmen, falls der Nährboden eine ziemlich feste Beschaffenheit hat und nicht zur Verflüssigung neigt (Agar). Die einzelnen in der Kolonie enthaltenen Sporen werden mit zunehmender Erschöpfung des Nährbodens an wichtigen Stickstoffverbindungen immer kleiner, bis sie schließlich bei einer gewissen Minimalgröße angelangt sind.

Manche Kolonien haben Sporen von einheitlicher Beschaffenheit, in anderen besitzen die Sporen teils Anlagen zur Mycelbildung, teils die Fähigkeit, neue Sporen zu bilden. Je nach der Beschaffenheit des Nährbodens und der darin enthaltenen Stickstoffverbindungen kann diese oder jene Form der Sporen an ihrer weiteren Entwicklung gehindert werden, so daß schließlich die Produkte einheitlich sind, trotzdem man annehmen muß, daß die Anlagen in den Sporen zu einer Differenzierung ursprünglich befähigt waren.

Werden Teile der Kolonie in einen Nährboden übertragen, welche sowohl die Kohlenstoffverbindungen wie auch den Stickstoff in einer für die Ernährung dieser Organismen sehr günstigen Form enthalten, z. B.: in Gelatine mit Zusatz von wenig Glycerin, oder in Peptongelatine, so kommt es auf saurem Nährboden in der Regel zunächst nur zur Mycelbildung. Sind die Nährstoffe teilweise verbraucht, hat der Nährboden dadurch eine ungünstigere Beschaffenheit angenommen, so findet nur eine Teilung der Organismen statt, es bilden sich Kokken und die Gelatine wird schwach verflüssigt. In noch älteren Kulturen wird der Nährboden ganz flüssig und sind dann zahlreiche Mikrokokken vorhanden. In alkalischem Nährboden haben die Makro- und Mikrokokken häufig, wenn auch nicht ausschließlich, eine längliche, in saurem Nährboden vorzugsweise eine runde Form.

Ueberträgt man Teile einer Kolonie nicht in Gelatine, sondern in Agarnährboden, so wird man bei Gegenwart einer sehr günstigen Stickstoffnahrung und einer nicht sehr ergiebigen Kohlenstoffquelle einen Teil der Sporen zur Mycelbildung, einen anderen Teil zur Neubildung von Kokken schreiten sehen und ist die Unterdrückung der einen oder der anderer Form unter diesen Verhältnissen kaum zu beobachten. Giebt man dagegen dem Agarnährboden nur einen Zusatz von ungünstig wirkenden Stickstoffverbindungen, z. B. Harnstoff, Ammonsulfat u. dergl., so kommt es kaum zur Mycelbildung, sondern fast ausschließlich zur Erzeugung von Makro- und Mikrokokken. Nicht selten umgeben die Kolonien sich im letzteren Falle mit einer Membran, so daß die ganze Kolonie mittels einer Platinnadel vom Nährboden abgehoben werden kann. Die Membran platzt später und gewährt wurzelähnlichen Hyphen einen Durchtritt. Auch kann unter Umständen die Bildung von kreideweißen Auflagerungen, unmittelbar aus den Kolonien hervorgehend, hin und wieder beobachtet werden. In letzterem Falle treten 2 bewegliche Kokken in Kopulation, kommen dann zur Ruhe und bilden einen Mycelschlauch. Indes kommt in dem viel Nitrit enthaltenden Nährboden dieser Schlauch nicht zur vollen Entwicklung, sondern nimmt eine deformierte Gestalt an.

Die verschieden gefärbten Kolonien zeigen nur eine geringe Abweichung in den Formen der darin vorhandenen Mikroorganismen. Die Kokken sind, wie schon erwähnt, teils völlig rund, teils oval, hin und wieder auch polyedrisch oder sarcinaartig zusammengelagert. Die zu Schläuchen ausgewachsenen Sporen haben in der Regel an jedem Polende eine runde Spore. Nicht selten sind die Kokken oder Stäbchen zu zweien oder zu mehreren zusammengelagert, häufig mit lebhafter Bewegung begabt, während daneben manche gleichgeformte Organismen bewegungslos liegen. Daß unter Umständen aus den Kolonien eine Mycelbildung hervorgehen kann, wurde bereits erwähnt.

In den bräunlich-weißen und bräunlich-irisierenden Kolonien fanden wir vorzugsweise runde und ovale Kokken, von 0,8—1,0  $\mu$  Größe, Uebergänge von Kokken zu Sporenschläuchen und in alten Kolonien kleinere, völlig runde Kokken.

Die rosagefärbten Kolonien enthielten zunächst vorzugsweise



Makrokokken von ungefähr  $2\ \mu$  Durchmesser, hin und wieder polyedrisch zusammengelagert. In älteren Kolonien waren durch fortschreitende Teilung die Formen kleiner, von  $0,5$ — $1,0\ \mu$  Größe.

In den bläulich-irisierenden Kolonien sehen wir meist Kokken verschiedener Größe ( $0,5$ — $1,0\ \mu$ ), sowie Sporenschläuche von  $2$ — $5\ \mu$  Länge und  $1\ \mu$  Breite. Letztere namentlich auf alkalischen Asparaginagarplatten.

Die grau-weißen Kolonien hatten vorzugsweise Kokken bis zu  $2\ \mu$  Durchmesser, ferner Stäbchen von  $1\ \mu$  Länge und  $0,5$ — $0,2\ \mu$  Breite (Nährboden: Asparaginagar, sauer).

Gelbe Kolonien. Die Sporenschläuche hatten eine Breite von ungefähr  $1\ \mu$  und eine Länge von  $1,5$ — $3\ \mu$ . Die längeren Formen beobachteten wir vorzugsweise auf saurem Agarnährboden, welcher als Stickstoffmaterial Asparagin enthielt. Zahlreiche Kokken kann man in den gelben Kolonien beobachten. Auf ungünstigem Nährboden, z. B. auf Platten von saurem Harnstoffagar, betrug deren Durchmesser  $0,5$ — $0,6\ \mu$ , auf günstigem Nährboden (Asparaginagar) dagegen  $0,8$ — $1,0\ \mu$ . In älteren Kolonien sieht man ganz kleine Kokken, sowie die kleinste Form von Stäbchen mit einem Durchmesser von nur  $0,2\ \mu$ .

Die wasserhellen, farblosen Kolonien, welche das Aussehen wie lichtbrechende Öltröpfchen haben, enthielten seltener Kokken von  $2,0\ \mu$  Durchmesser, meist kleinere Kokken von  $\frac{3}{4}$ — $1,0\ \mu$  Größe, sowie ganz kleine dünne Stäbchen. Mit der Lupe betrachtet sind diese Kolonien oft gleichartig beschaffen, bisweilen zeigen sie einen körnigen Inhalt. Im allgemeinen finden wir somit in allen Kolonien im wesentlichen dieselben Formen: nämlich Kokken bis zu  $2,0\ \mu$  Durchmesser, welche durch Teilung und Neubildung von Individuen sich verkleinern. Sporenschläuche verschiedener Größe, in welche kleine Kokken eingelagert sind, und endlich sind Stäbchen vorhanden die teils durch den Zerfall der größeren Kokken aus Mikrosporen oder durch Auswachsen der in den Schläuchen vorhandenen Mikrosporen entstehen und einen Mindestdurchmesser von  $0,2\ \mu$  besitzen.

Die Entstehung der Sporenschläuche geht immer in der gleichen Weise vor sich und sind nur die Größenverhältnisse verschieden.

b) Kolonien aus einer Spore entstanden. Auf festem Nährboden, z. B. Agar, entstehen die Kolonien nicht immer aus Sporangien, also aus Zusammenlagerungen einer großen Anzahl von Sporen und von anderen Dauerformen, sondern sie können auch aus einzelnen, ausgeschwärmten endogenen Sporen ihren Ursprung nehmen und die Bildung von äußerst kleinen Oberflächenkolonien bedingen. Diese machen sich meist als grau-weiße, im durchfallenden Lichte auf der Oberfläche fast wasserhelle Tropfen bemerkbar. Diese sehr kleinen wasserhellen Kolonien enthalten Makrokokken von ungefähr  $3\ \mu$  Länge und  $2\ \mu$  Durchmesser, welche seitlich 2 Sporenschläuche bilden. Jeder Schlauch ist ungefähr  $1,5\ \mu$  lang und  $0,8\ \mu$  breit.

Andere Kokken haben vier randständige Sporenschläuche in mehr oder weniger symmetrischer Anordnung. Bei der genaueren Untersuchung sehen wir, daß diese Sporenschläuche im Innern Mikrokokken enthalten und zwar in der

Regel beiderseits je eine endständige Kokke. Später wird die Membran resorbiert und die Sporen werden frei.

Die weiteren Umwandlungen erfolgen schließlich in gleicher Weise, wie bei den früher erwähnten Kokken und Sporenschläuchen und können, je nach der Beschaffenheit des Nährbodens und entsprechend der Fähigkeit der Sporen, Mycelbildung zu veranlassen, oder nicht zu Mikrosporen, Makrosporen, kleinen Sporenschläuchen oder zu Pilzmycel auswachsen. (Ueber Sporenbildung und Sporenkeimung vergleiche man de Bary, Die Morphologie etc. 1884. p. 78 u. 117.)

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Butter Aroma.

By

H. W. Conn,

Wesleyan University, Middletown, Conn., U. S. A.

The recent interesting and valuable contribution of Weigmann upon butter aroma (Milchzeitung. 1896. No. 50—52) has led me to give this further short account of my own experiments upon the same subject. I do this inasmuch as the results of Prof. Weigmann are, in the main, so closely in accord with my own, and because Prof. Weigmann appears, to a certain degree, to have misunderstood my own conclusions upon the matter.

Since the publication of my last paper in this Centralblatt (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. II. No. 13) the experiments there mentioned have been continued and an additional lot of dairy bacteria have been tested along the same lines. In regard to these dairy organisms a word may be of some interest to bacteriologists. My list of dairy organisms in this vicinity is now something over 125, but as this list increases it is becoming more evident to me that there are wide variations among the different cultures of the same organism that may be found in our dairies, and that probably many of these forms described as distinct from each other, because they show undoubted differences in certain culture fluids, will in the end be of necessity grouped together under a few somewhat variable species. For instance, in one sample of milk I found two different types of micrococci. These types agreed with each other in most characters, but one of them produced a snow-white growth on agar and on potato and other solid media, while the other produced a growth that was very decidedly yellow, nearly deep enough for an orange yellow. This difference in color appeared to be constant and these two organisms were at once regarded as distinct. After examining a large number of samples of milk from the same and from other dairies it was found that the two forms were connected by numerous intermediate forms, so that there was every grade in the pigment production between the almost orange color and the pure white; and I was forced to

regard these as belonging to the same species. Further, there had been found somewhat previously an organism agreeing with these in producing either white or yellow pigment, but differing from them in liquefying gelatine. The first two mentioned did not liquefy gelatine, but did form a somewhat deep, dry pit in the gelatine. Further study of other types separated from the milk gave forms which liquefied gelatine with extreme slowness, and have nearly driven me to the conclusion that here, too, we have intermediate grades between the liquefying and the non-liquefying type; and that we have thus in these organisms, which have been described in my list as four different species, merely different varieties of the same varying micrococcus. What is true of this organism is probably true of some of the others; so that this bacterial work is convincing me that dairy organisms are quite widely variable and may appear in the bacteriologists laboratory under different heads when they really belong together. It has also appeared that in their power of affecting butter these organisms are also variable. Of the varieties mentioned above, some appeared to have little or no effect upon butter, while others have a much more decided effect. If this is true, it is, of course, a matter of considerable practical significance as indicating the probability that any given species of microorganism may lose or develop powers of affecting the aroma and the flavor of butter under different methods of cultivation, and thus render it far more difficult to furnish pure cultures to butter-makers with a certainty of producing desired results.

Turning to the question of butter aroma as produced by microorganism, I may say that the number of different varieties that have been tested in my laboratory is now nearly 70, and the experiments number several hundred. The general result of more recent experiments has been almost identical with those described in the earlier paper. I have found that the production of butter aroma is, in general, more unusual than the production of a good flavor. A much larger number of dairy bacteria favorably effect the butter flavor than effect the butter aroma. I have found, further, as did Weigmann, that single species of bacteria, when used in pure cultures, do not as a rule produce the desired and typical butter aroma. The aromas that are produced are sometimes pleasant, but not that of typical butter. I am still, therefore, of the opinion, as I have been for years, that the aroma that is produced in the butter of the ordinary creamery is due, not to the products resulting from the growth of any one species of microorganism, but rather from the combined results of a number acting together. This conclusion is identical with that of Prof. Weigmann, and in this respect my experiments are wholly in harmony with his own. Upon one point, however, I am perhaps slightly at variance with him. Among the various species which I have tested, there have been two which have produced an aroma very closely approximating to, if not identical with, the aroma of normal butter. The butter that was made from these two species of microorganisms had no flavor, or, at any rate, the flavor was almost inappreciable; but the aroma developed was strong, and not only

pleasant, but appeared to be almost identical with that which is looked for in a high quality of dairy product. The organisms that produced this aroma were not acid-producing species, but rather belonged to the class of organisms which act upon the albumen. This power which these organisms possessed of producing aroma did not, however, last very long when they were kept under cultivation in the laboratory, and after a few months appeared to have vanished. The experiments with these two organisms, therefore, have led me to conclude that there may be organisms which acting allone in a pure culture will develop a desired aroma, but the disappearance of this aroma-producing quality has led me to question the possibility of successfully cultivating any single bacterium and furnishing it to dairymen for the purpose of giving rise to the desired aroma. In general, my last experiments have confirmed me in the statement made, that good flavors are more likely to be found among acid-producing bacteria, while good aroma must usually be looked for elsewhere.

The further details of these experiments will be published in the reports of the Storr's Experiment Station, but I thought that perhaps this brief outline might be of interest to the readers of the *Centralblatt*, especially inasmuch as Prof. Weigmann, in his recent paper, has inferred that I have changed my opinion in regard to the aroma of ordinary butter. That the production of flavor and aroma in ordinary butter making is the result of a complicated fermentation by several different bacteria appears to be almost sure. That the use of pure cultures can improve the best quality of butter appears to me doubtful. But that pure cultures can frequently benefit the butter-maker seems to have been proved.

---

*Nachdruck verboten.*

## Das Vorkommen von *Bacillus pseudanthracis* im Fleischfuttermehl.

Von

R. Hartleb und A. Stutzer.

(Schluß.)

Zum Schlusse stellen wir die biologischen und morphologischen Eigenschaften unseres *Bacillus*, welchen wir aus L. und S. kultiviert haben, nochmals, unter gleichzeitigem Hinweis auf die früheren Angaben, kurz zusammen.

Im großen und ganzen können wir die bereits von Burri gemachten Angaben bestätigen.

Anordnung und Dimensionen. In Kulturen auf festem Nährboden, wie Agar, findet man die Bakterien meistens nicht in Fäden, sondern einzeln, aber in dichten Haufen liegend. In Bouillon wachsen sie gut.

Bei Bluttemperatur kann man bereits nach 6—10 Stunden eine reichliche Vermehrung der Bakterien in der Bouillonkultur wahrnehmen und tritt dann eine leichte Trübung der Bouillon ein.

Die Bakterien sind dann meist zu langen Fäden vereinigt und zuweilen zopfartig zusammengedreht.

Im hängenden Tropfen, aus Kulturen von Agar- oder Gelatineplatten übertragen, kann man keine Bewegung bemerken. In Bouillon gezüchtet, haben fast sämtliche Bakterien eine langsam wälzende Bewegung. Nur diejenigen Bakterien, welche zu langen Fäden oder zu längeren Verbänden vereinigt sind, besitzen diese Bewegung nicht. Die Bakterien sind durchschnittlich 3—6  $\mu$  lang und 1  $\mu$  breit.

Die Sporenbildung ist bei Bluttemperatur in Bouillon eine sehr ausgiebige; desgleichen auf schwach alkalischen Kartoffeln. Die Sporen sind ungefähr 1  $\mu$  breit und 1—1 $\frac{1}{2}$ ,  $\mu$  lang und lassen sich leicht mit Karbolfuchsin in der Wärme färben. In den einzelnen Bakterien konnte nur immer eine Spore gefunden werden, die im gefärbten Zustande in der Mitte der Zelle liegt. Bei der Auskeimung geht derselbe Vorgang wie beim Milzbrand vor sich. Die anfangs elliptische Spore streckt sich und an einem Ende tritt dann das junge Stäbchen heraus, welches, noch mit der Spore zusammenhängend, Bewegungen macht und nach der Trennung von der Mutterzelle ebenfalls lebhaft in der Flüssigkeit sich bewegt.

Gelatine- und Agarplatten. Nach 24 Stunden sind auf mäßig besäten Agarplatten die Tiefenkolonien meist wie ein Stecknadelkopf groß, rundlich, gelblich grau, etwas lichtbrechend mit unregelmäßigem Rande. Die Oberflächenkolonien gleichen völlig den wirklichen Kolonien von *B. anthracis*. Der Rand ist wellig und besitzt längere oder kürzere, häufig verschlingende Ausläufer, welche zuweilen wie eine Perlenschnur nach allen Richtungen in den Nährboden wachsen. Die Gelatineplatten werden verflüssigt, sobald die Kolonie in obenbeschriebener Weise an der Oberfläche angelangt und sich ausgebreitet hat. Die Kolonien liegen dann in einer Mulde und haben einen grauweißen flockigen, unregelmäßigen Inhalt.

Gelatinestrich. Längs des Impfstriches bildet sich ein grauweißer Belag, der eine etwas glänzende Oberfläche zeigt und vertiefend in die Gelatine hinein wächst. Der Rand ist schollig und unregelmäßig buchtig.

Nach der Verflüssigung der Gelatine rutscht der ganze Strich zusammenhängend auf den Boden des Reagensglases herab und hinterläßt nach weiterer Verflüssigung einen grauweißen flockigen Bodensatz.

Der Agarstrich verhält sich genau, wie solcher von R. Burri beschrieben wurde.

Der Gelatinestich. Die Stichkulturen geben, wie beim *B. anthracis*, nicht immer ein gleichmäßiges Bild. Häufig ist der Stich nach 48 Stunden bis 3 Tagen schlauchförmig, sich nach oben verbreitend, gewachsen, wobei dann eine gleichmäßige Verflüssigung der Gelatine eintritt und der grauweiße Belag längs des Impfstiches in größeren oder kleineren Flöckchen zu Boden sinkt. Nicht selten

bildet sich nun am Boden eine tiefere und breitere Mulde. Dieses ist nicht der Fall, wenn eine alte, etwas eingetrocknete Nährgelatine beim Impfen auseinanderreißt und Luft von oben ins Innere eintreten kann. Ist die Nährgelatine von normaler Beschaffenheit und schließt sich der Impfstich an der Oberfläche wieder, so tritt die charakteristische Verflüssigung, von der Oberfläche ausgehend, unter weißlicher Wolkenbildung, ein; der untere Teil des Striches entsendet nach mehreren Richtungen hin zackige, kurze Ausläufer, so daß das Ganze einer Pfahlwurzel mit kurzen wagerechten Nebenwurzeln nicht unähnlich sieht. Der Oberteil wird unter trompetenartiger Erweiterung verflüssigt.

**Kartoffel.** Der Strich auf schwach alkalischen Kartoffeln ist nach 48 Stunden bei Bluttemperatur zu üppigem Wachstum gelangt. Der Belag ist grauweiß, etwas erhaben, mattfeucht, glänzend mit wenig welligem Rande.

**Milch.** Nach 2 Tagen hat der *Bacillus* eine Zersetzung der Milch, unter Abscheidung des Kaseins, hervorgerufen. Die Milch reagiert ganz schwach sauer.

**Bouillon.** In dem Wachstum des *B. pseudanthracis* in Bouillon liegt der Hauptunterschied vom wirklichen *B. anthracis* und kann als einfachstes Kriterium betrachtet werden.

Wenige Stunden nach Uebertragung von Bakterien in Bouillon tritt bei Bluttemperatur eine leichte Trübung der Bouillon ein, die jedoch, je länger die anaerobe Züchtung dauerte, desto kürzere Zeit anhält. Bei völlig reinen Kulturen währt sie durchschnittlich nicht länger als 12 Stunden, dann bildet sich eine Haut an der Oberfläche und die darunter befindliche Flüssigkeit wird klar. Nach 24 Stunden hat sich ein flockiger Bodensatz gebildet und die ziemlich feste Haut sinkt bei leichter Erschütterung des Reagensglases zu Boden und zerreißt in flockige Teilchen.

Die Bakterien der Haut sind die leichter beweglichen, während die des Bodensatzes nur geringe und träge Bewegung zeigen. Nach abermaligem 24-stündigen Stehen bildet sich an der Oberfläche eine neue Haut, die jedoch nie mehr die Dicke der ersten erreichte, sondern meist als ganz dünnes, fast durchsichtiges Häutchen die Bouillon bedeckt.

Im Rückblick auf die schon früher beschriebenen Eigenschaften unseres Bakteriums, die außer seiner Beweglichkeit und der leichten Trübung der Bouillon völlig mit dem wirklichen *B. anthracis* übereinstimmen, glauben wir fest annehmen zu dürfen, daß derselbe eine Abart des *B. anthracis* ist, die in Südamerika vorkommt. Ob derselbe in seiner Heimat ähnliche pathogene Wirkungen ausübt, als unser *B. anthracis*, so daß man von einem besonderen amerikanischen Milzbrand sprechen könnte, wie von einer amerikanischen und einer europäischen Schweineseuche, lassen wir dahingestellt.

Bei unseren Versuchen war der *B. pseudanthracis* für Mäuse pathogen, während beim Meerschweinchen nur eine lokale Infektion erfolgte, die keinen tödlichen Charakter annahm. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, daß die Erhöhung der Virulenz des *B. pseudanthracis* noch weiter getrieben werden kann.

Die bisherigen ausführlichen Beschreibungen und Versuche beziehen sich auf den aus den Futtermehlen L. und S. gezüchteten *Bacillus*, den wir als *B. pseudanthracis* I bezeichnen wollen.

Es war vorhin die Rede von 5 anderen Proben von Fleischfuttermehl, die ebenfalls Bacillen enthalten, welche dem *B. pseudanthracis* sehr ähnlich sind und glauben wir, die charakteristischen Eigenschaften derselben kurz angeben zu sollen.

Wir unterscheiden hier 2 Arten, die wir *B. pseudanthracis* II und III nennen.

Zur Vervollständigung wollen wir noch eine kurze Charakteristik der übrigen 4 Bakterien anfügen, die durch ihre Ähnlichkeit und ihr übereinstimmendes Verhalten in den einzelnen Nährmedien ihre Zugehörigkeit zur Pseudanthrax- resp. Anthraxgruppe dokumentierten. Es sind die schon früher erwähnten Bakterien aus den Fleischfuttermehlen H. M. N. und R.

Die morphologischen und biologischen Eigenschaften dieser Bakterien berechnen sich, je zwei wieder als identisch anzusehen, so daß wir vielleicht nur noch von zwei Untergruppen sprechen dürfen.

Der Hauptunterschied liegt wieder im Verhalten gegen Bouillon, in der Beweglichkeit, sowie in den Größenverhältnissen.

#### *B. pseudanthracis* II aus Fleischmehl H. und N.

**Dimensionen und Verhalten in Bouillon.** Stäbchen mit scharf abgeschnittenen Enden, 3—6  $\mu$  lang und 0,6—1,0  $\mu$  breit, einzeln und in Kettenform. Im gefärbten Präparate von gleicher Länge und Breite.

**Beweglichkeit.** Der *Bacillus* besitzt lebhaft, schlängelnde Eigenbewegung. Längere Verbände in Fadenform haben eine trägere Beweglichkeit.

**Agarplatten.** Tiefenkolonien, grauweiß, rundlich. Oberflächenkolonien schmutzig-weiß, etwas fettig glänzend mit gelocktem Rande und fadenförmigen Ausläufern, welche beim weiteren Wachstum als grauweiße Decke sich über die Oberfläche verbreiten.

**Agarstrich.** Wenig feuchter, grauweißer, etwas fettig glänzender Belag mit wenig gebuchtetem Rande.

**Gelatinestich.** Wächst längs des Impfstiches unter trichterförmiger Vertiefung und Verflüssigung der Gelatine, sowie wolkiger Trübung derselben.

**Milch.** Abscheidung des Kaseins und schwache Säuerung desselben nach 2—3 Tagen.

**In Bouillon** Schwache Trübung unter Bildung einer Oberflächenhaut und eines flockigen Bodensatzes. Reichliche Sporenbildung bei Bluttemperatur. Nach 12—20 Stunden wieder völlige Klärung der Bouillon. Die Oberflächenhaut sinkt herab.

**In anaëroben verdünnten Bouillonkulturen** findet ein nur sehr geringes Wachstum statt. Keine Sporen- und Fadenbildung.

**Auf Kartoffeln.** Bei Bluttemperatur reichliches Wachstum, unter Bildung eines trockenen, weißgrauen, erhabenen, leicht abnehmbaren Belages mit reichlichen Sporen.

**Pathogenesis.** Nach anaërober Züchtung nicht pathogen für Mäuse und größere Tiere.

**B. pseudanthracis III aus Fleischmehl M. und R.**

Dimensionen und Verhalten in Bouillon. Stäbchen einzeln, zu zweien und zu mehreren zusammenhängend und zu Kettenform vereinigt. Größe 2—5  $\mu$ , Breite 1,0—1,5  $\mu$ . Im gefärbten Präparate etwas kleiner, ungefähr 1,0—1,2  $\mu$  breit und 2—5  $\mu$  lang. Die aus beiden Fleischfuttermehlen erhaltenen Bakterien trüben Bouillon, unterscheiden sich in sofern, daß bei R. die Trübung erst nach einigen Tagen wieder verschwand und ein flockiger Bodensatz sich bildet, während bei M., ähnliche dem B. pseudanthracis II, schon nach 12—20 Stunden wieder Klärung eintrat.

Die Beweglichkeit des Bacillus aus der Probe R. ist eine lebhaftere, als der übrigen Bakterien. Der Bacillus aus Probe M. zeigt nur träge Bewegungen, ähnlich dem B. pseudanthracis I.

Das Verhalten dieser beiden Bakterien in den übrigen Nährmedien ist sonst völlig dasselbe, wie es früher bei L. S. H. und N. beschrieben ist.

Durch anaërobe Züchtung konnte auch bei diesen beiden Mikroben keine pathogene Wirkung für Mäuse und größere Tiere hervorgerufen werden.

---

Durch unsere Beobachtungen dürfte die Kenntnis der Gruppe des B. anthracis eine Erweiterung erfahren haben und ergibt sich für die landwirtschaftliche Praxis aus den Versuchen der Hinweis, daß bei der Verwendung des amerikanischen Fleischfuttermehles eine sorgfältige Beobachtung des Gesundheitszustandes der Tiere, an welche es gegeben wird, empfehlenswert sein dürfte, wenn auch der direkte Zusammenhang der verschiedenen Formen des B. pseudanthracis mit dem wirklichen B. anthracis bisher nicht erwiesen ist.

21. November 1896.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Agar-Agarkulturen einiger Algen und Amöben.

Von

Dr. med. N. Tischutkin

in

Brest-Litowsk.

Angesichts der großen Bedeutung, welche die Reinkulturen nicht nur für die Bakteriologie und andere Teile der Parasitologie haben, dürfte es nicht ohne Interesse sein, wenn ich über die Erfolge berichte, die ich bei meinen Versuchen mit Kulturen einiger Algen erzielt habe.

Mein Interesse war auf den Polymorphismus der Bakterien und



deren Stellung im organischen Reiche gerichtet — Fragen, die bisher von verschiedenen Autoren verschieden beantwortet wurden, — und ich meinte mich der Lösung der Aufgabe zu nähern, indem ich vergleichende morphobiologische Beobachtungen der Bakterien und der ihnen in vieler Hinsicht ähnlichen Oscillarien anstellte. Dabei war ich natürlich genötigt, zunächst ein Mittel zu finden, die Oscillarien in Reinkultur zu erhalten.

So viel mir bekannt ist, war Beijerinck<sup>1)</sup> der erste, der Versuche gemacht hat, Algen in Reinkultur zu züchten. Im Jahre 1889 gelang es ihm, in einer 10-proz. Gelatinelösung in Grabenwasser *Scenedesmus acutus*, *Chlorella vulgaris* und *Chlorosphaera limicola* vollständig zu isolieren und außerdem noch die Beziehungen jedes dieser Organismen zu verschiedenen Nahrungstoffen festzustellen. Letztere bereitete er vor, indem er zu 8-proz. Gelatinelösung in gewöhnlichem Wasser folgende Stoffe hinzufügte: 1) Gelatine, vorläufig mit Pankreaspulver, stickstoffsaurem Ammonium und phosphorsaurem Kali bearbeitet, und 2) verschiedene Quantitäten trockenen Peptons, Asparagins, Rohrzuckers u. s. w.

Alle bekannten Algen wuchsen in künstlichen Nährsubstanzen gut und nur *Chlorosphaera limicola*, die sich auf Gelatine so üppig entwickelte, „als ob sie eine gewöhnliche Bakterie wäre“, verdünnte die Gelatine im Verlauf von einigen Monaten. Dieselbe Alge ergab auf Gelatine eine Unmasse von Zoosporen, jedoch wurde eine Kopulation derselben nicht beobachtet.

Beim Besäen der Oberfläche von Malzgelatine mit Partikeln der Flechte *Physcia parietina*, in sterilisiertem Wasser gewaschen, gelang es dem Autor, auch die Alge vom Pilz abzusondern, dafür mißlang ihm der Versuch, die Flechte künstlich hervorzurufen.

Nach Beijerinck erhielt Wilhelm Krüger<sup>2)</sup> im August 1892 in Gelatineschalen Kulturen, welche mit dem Materiale eines Saftflusses der Silberpappel (*Populus alba*) angesetzt waren, zweierlei Kolonien: die eine vollständig grün, wie Chlorophyll, die andere gelblich-grün. Die eine dieser Algen erwies sich bei näherer Untersuchung als zur Gattung *Chlorella* gehörig und wurde vom Autor *Chlorella protothecoides* benannt, die zweite Alge erachtete er als vollkommen neu und gab ihr den Namen *Chlorothecium saccharophilum*.

Bei meinen Untersuchungen versuchte ich es anfänglich, gleich Beijerinck, reine Algenkulturen mit Hilfe von Gelatinenährsubstanzen zu erhalten. Jedoch mußte ich mich gleich bei den ersten Versuchen überzeugen, daß dieselben für den vermerkten Zweck untauglich seien. Algenkulturen auf Gelatine gelingen nämlich nur in dem Falle, wenn man das Versuchsmaterial aus einer Quelle beziehen kann — wie es auch bei Beijerinck war — in der sich die für die Kultur bestimmte Alge an und für sich in sehr großen Quantitäten befindet und dank ihrer Ueberzahl alle anderen Organismen sozusagen

1) Beijerinck, Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichengonidien und anderen niederen Algen. (Bot. Zeitung. 1890. No. 45—48.)

2) W. Krüger, Ueber zwei aus Saftflüssen gezüchtete Algen. (Zopf's Beiträge zur Physiologie niederer Organismen. 4. Heft. 1894.)



Makrokokken von ungefähr  $2\ \mu$  Durchmesser, hin und wieder polyedrisch zusammengelagert. In älteren Kolonien waren durch fortschreitende Teilung die Formen kleiner, von  $0,5\text{--}1,0\ \mu$  Größe.



In den bläulich-irisierenden Kolonien sehen wir meist Kokken verschiedener Größe ( $0,5\text{--}1,0\ \mu$ ), sowie Sporenschläuche von  $2\text{--}5\ \mu$  Länge und  $1\ \mu$  Breite. Letztere namentlich auf alkalischen Asparaginagarplatten.

Die grau-weißen Kolonien hatten vorzugsweise Kokken bis zu  $2\ \mu$  Durchmesser, ferner Stäbchen von  $1\ \mu$  Länge und  $0,5\text{--}0,2\ \mu$  Breite (Nährboden: Asparaginagar, sauer).

Gelbe Kolonien. Die Sporenschläuche hatten eine Breite von ungefähr  $1\ \mu$  und eine Länge von  $1,5\text{--}3\ \mu$ . Die längeren Formen beobachteten wir vorzugsweise auf saurem Agarnährboden, welcher als Stickstoffmaterial Asparagin enthielt. Zahlreiche Kokken kann man in den gelben Kolonien beobachten. Auf ungünstigem Nährboden, z. B. auf Platten von saurem Harnstoffagar, betrug deren Durchmesser  $0,5\text{--}0,6\ \mu$ , auf günstigem Nährboden (Asparaginagar) dagegen  $0,8\text{--}1,0\ \mu$ . In älteren Kolonien sieht man ganz kleine Kokken, sowie die kleinste Form von Stäbchen mit einem Durchmesser von nur  $0,2\ \mu$ .

Die wasserhellen, farblosen Kolonien, welche das Aussehen wie lichtbrechende Oeltröpfchen haben, enthielten seltener Kokken von  $2,0\ \mu$  Durchmesser, meist kleinere Kokken von  $\frac{3}{4}\text{--}1,0\ \mu$  Größe, sowie ganz kleine dünne Stäbchen. Mit der Lupe betrachtet sind diese Kolonien oft gleichartig beschaffen, bisweilen zeigen sie einen körnigen Inhalt. Im allgemeinen finden wir somit in allen Kolonien im wesentlichen dieselben Formen: nämlich Kokken bis zu  $2,0\ \mu$  Durchmesser, welche durch Teilung und Neubildung von Individuen sich verkleinern. Sporenschläuche verschiedener Größe, in welche kleine Kokken eingelagert sind, und endlich sind Stäbchen vorhanden die teils durch den Zerfall der größeren Kokken aus Mikrosporen oder durch Auswachsen der in den Schläuchen vorhandenen Mikrosporen entstehen und einen Mindestdurchmesser von  $0,2\ \mu$  besitzen.

Die Entstehung der Sporenschläuche geht immer in der gleichen Weise vor sich und sind nur die Größenverhältnisse verschieden.

b) Kolonien aus einer Spore entstanden. Auf festem Nährboden, z. B. Agar, entstehen die Kolonien nicht immer aus Sporangien, also aus Zusammenlagerungen einer großen Anzahl von Sporen und von anderen Dauerformen, sondern sie können auch aus einzelnen, ausgeschwärmten endogenen Sporen ihren Ursprung nehmen und die Bildung von äußerst kleinen Oberflächenkolonien bedingen. Diese machen sich meist als grau-weiße, im durchfallenden Lichte auf der Oberfläche fast wasserhelle Tropfen bemerkbar. Diese sehr kleinen wasserhellen Kolonien enthalten Makrokokken von ungefähr  $3\ \mu$  Länge und  $2\ \mu$  Durchmesser, welche seitlich 2 Sporenschläuche bilden. Jeder Schlauch ist ungefähr  $1,5\ \mu$  lang und  $0,8\ \mu$  breit. Andere Kokken haben vier randständige Sporenschläuche in  mehr oder weniger symmetrischer Anordnung. Bei der genaueren Untersuchung sehen wir, daß  diese Sporenschläuche im Innern Mikrokokken enthalten und zwar in der

Regel beiderseits je eine endständige Kokke. Später wird die Membran resorbiert und die Sporen werden frei.

Die weiteren Umwandlungen erfolgen schließlich in gleicher Weise, wie bei den früher erwähnten Kokken und Sporenschläuchen und können, je nach der Beschaffenheit des Nährbodens und entsprechend der Fähigkeit der Sporen, Mycelbildung zu veranlassen, oder nicht zu Mikrosporen, Makrosporen, kleinen Sporenschläuchen oder zu Pilzmycel auswachsen. (Ueber Sporenbildung und Sporenkeimung vergleiche man de Bary, Die Morphologie etc. 1884. p. 78 u. 117.)

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Butter Aroma.

By

H. W. Conn,

Wesleyan University, Middletown, Conn., U. S. A.

The recent interesting and valuable contribution of Weigmann upon butter aroma (Milchzeitung. 1896. No. 50—52) has led me to give this further short account of my own experiments upon the same subject. I do this inasmuch as the results of Prof. Weigmann are, in the main, so closely in accord with my own, and because Prof. Weigmann appears, to a certain degree, to have misunderstood my own conclusions upon the matter.

Since the publication of my last paper in this Centralblatt (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. II. No. 13) the experiments there mentioned have been continued and an additional lot of dairy bacteria have been tested along the same lines. In regard to these dairy organisms a word may be of some interest to bacteriologists. My list of dairy organisms in this vicinity is now something over 125, but as this list increases it is becoming more evident to me that there are wide variations among the different cultures of the same organism that may be found in our dairies, and that probably many of these forms described as distinct from each other, because they show undoubted differences in certain culture fluids, will in the end be of necessity grouped together under a few somewhat variable species. For instance, in one sample of milk I found two different types of micrococci. These types agreed with each other in most characters, but one of them produced a snow-white growth on agar and on potato and other solid media, while the other produced a growth that was very decidedly yellow, nearly deep enough for an orange yellow. This difference in color appeared to be constant and these two organisms were at once regarded as distinct. After examining a large number of samples of milk from the same and from other dairies it was found that the two forms were connected by numerous intermediate forms, so that there was every grade in the pigment production between the almost orange color and the pure white; and I was forced to

regard these as belonging to the same species. Further, there had been found somewhat previously an organism agreeing with these in producing either white or yellow pigment, but differing from them in liquefying gelatine. The first two mentioned did not liquefy gelatine, but did form a somewhat deep, dry pit in the gelatine. Further study of other types separated from the milk gave forms which liquefied gelatine with extreme slowness, and have nearly driven me to the conclusion that here, too, we have intermediate grades between the liquefying and the non-liquefying type; and that we have thus in these organisms, which have been described in my list as four different species, merely different varieties of the same varying micrococcus. What is true of this organism is probably true of some of the others; so that this bacterial work is convincing me that dairy organisms are quite widely variable and may appear in the bacteriologists laboratory under different heads when they really belong together. It has also appeared that in their power of affecting butter these organisms are also variable. Of the varieties mentioned above, some appeared to have little or no effect upon butter, while others have a much more decided effect. If this is true, it is, of course, a matter of considerable practical significance as indicating the probability that any given species of microorganism may lose or develop powers of affecting the aroma and the flavor of butter under different methods of cultivation, and thus render it far more difficult to furnish pure cultures to butter-makers with a certainty of producing desired results.

Turning to the question of butter aroma as produced by microorganism, I may say that the number of different varieties that have been tested in my laboratory is now nearly 70, and the experiments number several hundred. The general result of more recent experiments has been almost identical with those described in the earlier paper. I have found that the production of butter aroma is, in general, more unusual than the production of a good flavor. A much larger number of dairy bacteria favorably effect the butter flavor than effect the butter aroma. I have found, further, as did Weigmann, that single species of bacteria, when used in pure cultures, do not as a rule produce the desired and typical butter aroma. The aromas that are produced are sometimes pleasant, but not that of typical butter. I am still, therefore, of the opinion, as I have been for years, that the aroma that is produced in the butter of the ordinary creamery is due, not to the products resulting from the growth of any one species of microorganism, but rather from the combined results of a number acting together. This conclusion is identical with that of Prof. Weigmann, and in this respect my experiments are wholly in harmony with his own. Upon one point, however, I am perhaps slightly at variance with him. Among the various species which I have tested, there have been two which have produced an aroma very closely approximating to, if not identical with, the aroma of normal butter. The butter that was made from these two species of microorganisms had no flavor, or, at any rate, the flavor was almost inappreciable; but the aroma developed was strong, and not only

pleasant, but appeared to be almost identical with that which is looked for in a high quality of dairy product. The organisms that produced this aroma were not acid-producing species, but rather belonged to the class of organisms which act upon the albumen. This power which these organisms possessed of producing aroma did not, however, last very long when they were kept under cultivation in the laboratory, and after a few months appeared to have vanished. The experiments with these two organisms, therefore, have led me to conclude that there may be organisms which acting allone in a pure culture will develop a desired aroma, but the disappearance of this aroma-producing quality has led me to question the possibility of successfully cultivating any single bacterium and furnishing it to dairymen for the purpose of giving rise to the desired aroma. In general, my last experiments have confirmed me in the statement made, that good flavors are more likely to be found among acid-producing bacteria, while good aroma must usually be looked for elsewhere.

The further details of these experiments will be published in the reports of the Storr's Experiment Station, but I thought that perhaps this brief outline might be of interest to the readers of the *Centralblatt*, especially inasmuch as Prof. Weigmann, in his recent paper, has inferred that I have changed my opinion in regard to the aroma of ordinary butter. That the production of flavor and aroma in ordinary butter making is the result of a complicated fermentation by several different bacteria appears to be almost sure. That the use of pure cultures can improve the best quality of butter appears to me doubtful. But that pure cultures can frequently benefit the butter-maker seems to have been proved.

---

*Nachdruck verboten.*

## Das Vorkommen von *Bacillus pseudanthracis* im Fleischfuttermehl.

Von

B. Hartleb und A. Stutzer.

(Schluß.)

Zum Schlusse stellen wir die biologischen und morphologischen Eigenschaften unseres *Bacillus*, welchen wir aus L. und S. kultiviert haben, nochmals, unter gleichzeitigem Hinweis auf die früheren Angaben, kurz zusammen.

Im großen und ganzen können wir die bereits von Burri gemachten Angaben bestätigen.

Anordnung und Dimensionen. In Kulturen auf festem Nährboden, wie Agar, findet man die Bakterien meistens nicht in Fäden, sondern einzeln, aber in dichten Haufen liegend. In Bouillon wachsen sie gut.

Bei Bluttemperatur kann man bereits nach 6—10 Stunden eine reichliche Vermehrung der Bakterien in der Bouillonkultur wahrnehmen und tritt dann eine leichte Trübung der Bouillon ein.

Die Bakterien sind dann meist zu langen Fäden vereinigt und zuweilen zopfartig zusammengedreht.

Im hängenden Tropfen, aus Kulturen von Agar- oder Gelatineplatten übertragen, kann man keine Bewegung bemerken. In Bouillon gezüchtet, haben fast sämtliche Bakterien eine langsam wälzende Bewegung. Nur diejenigen Bakterien, welche zu langen Fäden oder zu längeren Verbänden vereinigt sind, besitzen diese Bewegung nicht. Die Bakterien sind durchschnittlich 3—6  $\mu$  lang und 1  $\mu$  breit.

Die Sporenbildung ist bei Bluttemperatur in Bouillon eine sehr ausgiebige; desgleichen auf schwach alkalischen Kartoffeln. Die Sporen sind ungefähr 1  $\mu$  breit und 1—1 $\frac{1}{2}$   $\mu$  lang und lassen sich leicht mit Karbolfuchsin in der Wärme färben. In den einzelnen Bakterien konnte nur immer eine Spore gefunden werden, die im gefärbten Zustande in der Mitte der Zelle liegt. Bei der Auskeimung geht derselbe Vorgang wie beim Milzbrand vor sich. Die anfangs elliptische Spore streckt sich und an einem Ende tritt dann das junge Stäbchen heraus, welches, noch mit der Spore zusammenhängend, Bewegungen macht und nach der Trennung von der Mutterzelle ebenfalls lebhaft in der Flüssigkeit sich bewegt.

Gelatine- und Agarplatten. Nach 24 Stunden sind aufmäßig besäten Agarplatten die Tiefenkolonien meist wie ein Stecknadelkopf groß, rundlich, gelblich grau, etwas lichtbrechend mit unregelmäßigem Rande. Die Oberflächenkolonien gleichen völlig den wirklichen Kolonien von *B. anthracis*. Der Rand ist wellig und besitzt längere oder kürzere, häufig verschlingende Ausläufer, welche zuweilen wie eine Perlenschnur nach allen Richtungen in den Nährboden wachsen. Die Gelatineplatten werden verflüssigt, sobald die Kolonie in obenbeschriebener Weise an der Oberfläche angelangt und sich ausgebreitet hat. Die Kolonien liegen dann in einer Mulde und haben einen grauweißen flockigen, unregelmäßigen Inhalt.

Gelatinestrich. Längs des Impfstriches bildet sich ein grauweißer Belag, der eine etwas glänzende Oberfläche zeigt und vertiefend in die Gelatine hinein wächst. Der Rand ist schollig und unregelmäßig buchtig.

Nach der Verflüssigung der Gelatine rutscht der ganze Strich zusammenhängend auf den Boden des Reagensglases herab und hinterläßt nach weiterer Verflüssigung einen grauweißen flockigen Bodensatz.

Der Agarstrich verhält sich genau, wie solcher von *R. Burri* beschrieben wurde.

Der Gelatinestrich. Die Stichkulturen geben, wie beim *B. anthracis*, nicht immer ein gleichmäßiges Bild. Häufig ist der Stich nach 48 Stunden bis 3 Tagen schlauchförmig, sich nach oben verbreitend, gewachsen, wobei dann eine gleichmäßige Verflüssigung der Gelatine eintritt und der grauweiße Belag längs des Impfstriches in größeren oder kleineren Flöckchen zu Boden sinkt. Nicht selten

bildet sich nun am Boden eine tiefere und breitere Mulde. Dieses ist nicht der Fall, wenn eine alte, etwas eingetrocknete Nährgelatine beim Impfen auseinanderreißt und Luft von oben ins Innere eintreten kann. Ist die Nährgelatine von normaler Beschaffenheit und schließt sich der Impfstich an der Oberfläche wieder, so tritt die charakteristische Verflüssigung, von der Oberfläche ausgehend, unter weißlicher Wolkenbildung, ein; der untere Teil des Striches entsendet nach mehreren Richtungen hin zackige, kurze Ausläufer, so daß das Ganze einer Pfahlwurzel mit kurzen wagerechten Nebenwurzeln nicht unähnlich sieht. Der Oberteil wird unter trompetenartiger Erweiterung verflüssigt.

**Kartoffel.** Der Strich auf schwach alkalischen Kartoffeln ist nach 48 Stunden bei Bluttemperatur zu üppigem Wachstum gelangt. Der Belag ist grauweiß, etwas erhaben, mattfeucht, glänzend mit wenig welligem Rande.

**Milch.** Nach 2 Tagen hat der *Bacillus* eine Zersetzung der Milch, unter Abscheidung des Kaseins, hervorgerufen. Die Milch reagiert ganz schwach sauer.

**Bouillon.** In dem Wachstum des *B. pseudanthracis* in Bouillon liegt der Hauptunterschied vom wirklichen *B. anthracis* und kann als einfachstes Kriterium betrachtet werden.

Wenige Stunden nach Uebertragung von Bakterien in Bouillon tritt bei Bluttemperatur eine leichte Trübung der Bouillon ein, die jedoch, je länger die anaerobe Züchtung dauerte, desto kürzere Zeit anhält. Bei völlig reinen Kulturen währt sie durchschnittlich nicht länger als 12 Stunden, dann bildet sich eine Haut an der Oberfläche und die darunter befindliche Flüssigkeit wird klar. Nach 24 Stunden hat sich ein flockiger Bodensatz gebildet und die ziemlich feste Haut sinkt bei leichter Erschütterung des Reagensglases zu Boden und zerreißt in flockige Teilchen.

Die Bakterien der Haut sind die leichter beweglichen, während die des Bodensatzes nur geringe und träge Bewegung zeigen. Nach abermaligem 24-stündigen Stehen bildet sich an der Oberfläche eine neue Haut, die jedoch nie mehr die Dicke der ersten erreichte, sondern meist als ganz dünnes, fast durchsichtiges Häutchen die Bouillon bedeckt.

Im Rückblick auf die schon früher beschriebenen Eigenschaften unseres Bakteriums, die außer seiner Beweglichkeit und der leichten Trübung der Bouillon völlig mit dem wirklichen *B. anthracis* übereinstimmen, glauben wir fest annehmen zu dürfen, daß derselbe eine Abart des *B. anthracis* ist, die in Südamerika vorkommt. Ob derselbe in seiner Heimat ähnliche pathogene Wirkungen ausübt, als unser *B. anthracis*, so daß man von einem besonderen amerikanischen Milzbrand sprechen könnte, wie von einer amerikanischen und einer europäischen Schweineseuche, lassen wir dahingestellt.

Bei unseren Versuchen war der *B. pseudanthracis* für Mäuse pathogen, während beim Meerschweinchen nur eine lokale Infektion erfolgte, die keinen tödlichen Charakter annahm. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, daß die Erhöhung der Virulenz des *B. pseudanthracis* noch weiter getrieben werden kann.



Die bisherigen ausführlichen Beschreibungen und Versuche beziehen sich auf den aus den Futtermehlen L. und S. gezüchteten *Bacillus*, den wir als *B. pseudanthracis* I bezeichnen wollen.

Es war vorhin die Rede von 5 anderen Proben von Fleischfuttermehl, die ebenfalls Bacillen enthalten, welche dem *B. pseudanthracis* sehr ähnlich sind und glauben wir, die charakteristischen Eigenschaften derselben kurz angeben zu sollen.

Wir unterscheiden hier 2 Arten, die wir *B. pseudanthracis* II und III nennen.

Zur Vervollständigung wollen wir noch eine kurze Charakteristik der übrigen 4 Bakterien anfügen, die durch ihre Ähnlichkeit und ihr übereinstimmendes Verhalten in den einzelnen Nährmedien ihre Zugehörigkeit zur Pseudanthrax- resp. Anthraxgruppe dokumentierten. Es sind die schon früher erwähnten Bakterien aus den Fleischfuttermehlen H. M. N. und R.

Die morphologischen und biologischen Eigenschaften dieser Bakterien berechtigen uns, je zwei wieder als identisch anzusehen, so daß wir vielleicht nur noch von zwei Untergruppen sprechen dürfen.

Der Hauptunterschied liegt wieder im Verhalten gegen Bouillon, in der Beweglichkeit, sowie in den Größenverhältnissen.

#### *B. pseudanthracis* II aus Fleischmehl H. und N.

**Dimensionen und Verhalten in Bouillon.** Stäbchen mit scharf abgeschnittenen Enden, 3—6  $\mu$  lang und 0,6—1,0  $\mu$  breit, einzeln und in Kettenform. Im gefärbten Präparate von gleicher Länge und Breite.

**Beweglichkeit.** Der *Bacillus* besitzt lebhafte, schlängelnde Eigenbewegung. Längere Verbände in Fadenform haben eine trägere Beweglichkeit.

**Agarplatten.** Tiefenkolonien, grauweiß, rundlich. Oberflächenkolonien schmutzig-weiß, etwas fettig glänzend mit gelocktem Rande und fadenförmigen Ausläufern, welche beim weiteren Wachstum als grauweiße Decke sich über die Oberfläche verbreiten.

**Agarstrich.** Wenig feuchter, grauweißer, etwas fettig glänzender Belag mit wenig gebuchtetem Rande.

**Gelatinestich.** Wächst längs des Impfstiches unter trichterförmiger Vertiefung und Verflüssigung der Gelatine, sowie wolkiger Trübung derselben.

**Milch.** Abscheidung des Kaseins und schwache Säuerung desselben nach 2—3 Tagen.

**In Bouillon** Schwache Trübung unter Bildung einer Oberflächenhaut und eines flockigen Bodensatzes. Reichliche Sporenbildung bei Bluttemperatur. Nach 12—20 Stunden wieder völlige Klärung der Bouillon. Die Oberflächenhaut sinkt herab.

**In anaëroben verdünnten Bouillonkulturen** findet ein nur sehr geringes Wachstum statt. Keine Sporen- und Fadenbildung.

**Auf Kartoffeln.** Bei Bluttemperatur reichliches Wachstum, unter Bildung eines trockenen, weißgrauen, erhabenen, leicht abnehmbaren Belages mit reichlichen Sporen.

**Pathogenesis.** Nach anaërober Züchtung nicht pathogen für Mäuse und größere Tiere.

**B. pseudanthracis III aus Fleischmehl M. und R.**

Dimensionen und Verhalten in Bouillon. Stäbchen einzeln, zu zweien und zu mehreren zusammenhängend und zu Kettenform vereinigt. Größe 2—5  $\mu$ , Breite 1,0—1,5  $\mu$ . Im gefärbten Präparate etwas kleiner, ungefähr 1,0—1,2  $\mu$  breit und 2—5  $\mu$  lang. Die aus beiden Fleischfuttermehlen erhaltenen Bakterien trüben Bouillon, unterscheiden sich in sofern, daß bei R. die Trübung erst nach einigen Tagen wieder verschwand und ein flockiger Bodensatz sich bildet, während bei M., ähnliche dem B. pseudanthracis II, schon nach 12—20 Stunden wieder Klärung eintrat.

Die Beweglichkeit des Bacillus aus der Probe R. ist eine lebhaftere, als der übrigen Bakterien. Der Bacillus aus Probe M. zeigt nur träge Bewegungen, ähnlich dem B. pseudanthracis I.

Das Verhalten dieser beiden Bakterien in den übrigen Nährmedien ist sonst völlig dasselbe, wie es früher bei L. S. H. und N. beschrieben ist.

Durch anaërobe Züchtung konnte auch bei diesen beiden Mikroben keine pathogene Wirkung für Mäuse und größere Tiere hervorgerufen werden.

---

Durch unsere Beobachtungen dürfte die Kenntnis der Gruppe des B. anthracis eine Erweiterung erfahren haben und ergibt sich für die landwirtschaftliche Praxis aus den Versuchen der Hinweis, daß bei der Verwendung des amerikanischen Fleischfuttermehles eine sorgfältige Beobachtung des Gesundheitszustandes der Tiere, an welche es gegeben wird, empfehlenswert sein dürfte, wenn auch der direkte Zusammenhang der verschiedenen Formen des B. pseudanthracis mit dem wirklichen B. anthracis bisher nicht erwiesen ist.

21. November 1896.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Agar-Agarkulturen einiger Algen und Amöben.

Von

Dr. med. N. Tischutkin

in

Brest-Litowsk.

Angesichts der großen Bedeutung, welche die Reinkulturen nicht nur für die Bakteriologie und andere Teile der Parasitologie haben, dürfte es nicht ohne Interesse sein, wenn ich über die Erfolge berichte, die ich bei meinen Versuchen mit Kulturen einiger Algen erzielt habe.

Mein Interesse war auf den Polymorphismus der Bakterien und

deren Stellung im organischen Reiche gerichtet — Fragen, die bisher von verschiedenen Autoren verschieden beantwortet wurden, — und ich meinte mich der Lösung der Aufgabe zu nähern, indem ich vergleichende morphobiologische Beobachtungen der Bakterien und der ihnen in vieler Hinsicht ähnlichen Oscillarien anstellte. Dabei war ich natürlich genötigt, zunächst ein Mittel zu finden, die Oscillarien in Reinkultur zu erhalten.

So viel mir bekannt ist, war Beijerinck<sup>1)</sup> der erste, der Versuche gemacht hat, Algen in Reinkultur zu züchten. Im Jahre 1889 gelang es ihm, in einer 10-proz. Gelatinelösung in Grabenwasser *Scenedesmus acutus*, *Chlorella vulgaris* und *Chlorosphaera limicola* vollständig zu isolieren und außerdem noch die Beziehungen jedes dieser Organismen zu verschiedenen Nahrungstoffen festzustellen. Letztere bereitete er vor, indem er zu 8-proz. Gelatinelösung in gewöhnlichem Wasser folgende Stoffe hinzufügte: 1) Gelatine, vorläufig mit Pankreaspulver, stickstoffsaurem Ammonium und phosphorsaurem Kali bearbeitet, und 2) verschiedene Quantitäten trockenen Peptons, Asparagins, Rohrzuckers u. s. w.

Alle bekannten Algen wuchsen in künstlichen Nährsubstanzen gut und nur *Chlorosphaera limicola*, die sich auf Gelatine so üppig entwickelte, „als ob sie eine gewöhnliche Bakterie wäre“, verdünnte die Gelatine im Verlauf von einigen Monaten. Dieselbe Alge ergab auf Gelatine eine Unmasse von Zoosporen, jedoch wurde eine Kopulation derselben nicht beobachtet.

Beim Besäen der Oberfläche von Malzgelatine mit Partikeln der Flechte *Physcia parietina*, in sterilisiertem Wasser gewaschen, gelang es dem Autor, auch die Alge vom Pilz abzusondern, dafür mißlang ihm der Versuch, die Flechte künstlich hervorzurufen.

Nach Beijerinck erhielt Wilhelm Krüger<sup>2)</sup> im August 1892 in Gelatineschalen Kulturen, welche mit dem Materiale eines Saftflusses der Silberpappel (*Populus alba*) angesetzt waren, zweierlei Kolonien: die eine vollständig grün, wie Chlorophyll, die andere gelblich-grün. Die eine dieser Algen erwies sich bei näherer Untersuchung als zur Gattung *Chlorella* gehörig und wurde vom Autor *Chlorella protothecoides* benannt, die zweite Alge erachtete er als vollkommen neu und gab ihr den Namen *Chlorothecium saccharophilum*.

Bei meinen Untersuchungen versuchte ich es anfänglich, gleich Beijerinck, reine Algenkulturen mit Hilfe von Gelatinenährsubstanzen zu erhalten. Jedoch mußte ich mich gleich bei den ersten Versuchen überzeugen, daß dieselben für den vermerkten Zweck untauglich seien. Algenkulturen auf Gelatine gelingen nämlich nur in dem Falle, wenn man das Versuchsmaterial aus einer Quelle beziehen kann — wie es auch bei Beijerinck war — in der sich die für die Kultur bestimmte Alge an und für sich in sehr großen Quantitäten befindet und dank ihrer Ueberzahl alle anderen Organismen sozusagen

1) Beijerinck, Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichengonidien und anderen niederen Algen. (Bot. Zeitung. 1890. No. 45—48.)

2) W. Krüger, Ueber zwei aus Saftflüssen gezüchtete Algen. (Zopf's Beiträge zur Physiologie niederer Organismen. 4. Heft. 1894.)





unterdrückt. Wenn man aber, so wie ich, genötigt ist, Saaten aus einem Material zu machen, das aus verschiedenen Organismen besteht, unter denen auch Bakterien in gehörigen Quantitäten vertreten sind, so verflüssigt sich die Gelatine sehr schnell. Diese Verflüssigung verbreitet sich allmählich über die ganze Kultur, wobei eine Unterdrückung der Algen durch stark entwickelte Bakterien erfolgt. Nach einigen solchen mißglückten Versuchen, Gelatinealgenkulturen zu erhalten, sah ich mich genötigt, eine andere Nährsubstanz zu suchen, und wählte dazu Agar-Agar.

Bei Wahl der Nährsubstanz strebte ich möglichst danach, ein Nährsubstrat zusammenzusetzen, das den natürlichen Medien der Algen am meisten entspräche. Da ich meinen Untersuchungen nur Süßwasseralgen unterwarf — Algen aus dem Teich im Botanischen Garten der Kaiserlichen medizinischen Akademie und aus der Neva — so wählte ich denn auch eine 1-proz. Agarlösung in gewöhnlichem Wasser ohne jegliche Beigabe.

Die Zubereitung der Nährsubstanz war folgende: Auf eine bestimmte Quantität Wasser nahm ich in 1-proz. Verhältnisse Agar-Agar von der besten Sorte (in Bündelchen) und ließ ihn sich im Verlauf von 10 Minuten bei Druck von 2 Atmosphären im Autoklaven lösen. Darauf filtrierte ich die Lösung durch einen Papierfilter (aus Rjasanzew'schem Papier) in einem gewöhnlichen Trichter. Nach Verteilung der Lösung auf Eprouvetten sterilisierte ich sie wieder im selben Autoklaven in der Dauer von 15 Minuten und bei Druck von einer Atmosphäre. Nach Abkühlung der Lösung erhielt ich eine farblose, vollkommen durchsichtige, feste Substanz, die dem Wachstum der Mehrzahl der Bakterien sehr wenig günstig war. Ausgesäet wurden die Algen erst dann, nachdem die Phiolen mit der Agarlösung, der Kontrolle wegen, einige Tage im Thermostaten verbracht hatten.

Ueber die Art, wie die Aussaaten gemacht wurden, brauche ich meiner Meinung nach mich nicht auszulassen, da es nach allgemeinen Regeln der Bakteriologie geschah. Ich bemerke nur, daß die Fadenalgen, vorläufig in sterilem Wasser abgespült, mit steriler Scheere zerstückelt und in einer besonderen Phiole mit sterilem Wasser durchgeschüttelt wurden. Von hier aus wurden dann die einzelnen Tropfen der Mischung auf verdünnten und bis zu 40° abgekühlten Agar übertragen.

Bei Zubereitung von Kulturen nach Petri'scher Methode wandte ich gewöhnlich nicht weniger als 3—4 Verdünnungen in sterilem Wasser an. Der Inhalt jeder einzigen Eprouvette wurde durch Hin- und Herrollen zwischen beiden Handflächen stark durchgerüttelt. In allen anderen Fällen wurden die Saaten auf die beschriebene Weise durch einfaches Uebertragen einer verschiedenen Anzahl von Tropfen, welche bald diese, bald jene Algen enthielten, gemacht. Für die Saaten benutzte ich stets doppelte Petri'sche Schalen.

Nach Erstarren des Agars wurden die Schalen auf einem Fensterbrett oder auf einem Tische in der Nähe eines hellen Fensters übereinander placiert; unter die Schalen wurde eine Glasplatte mit untergebreitetem weißen Papier gelegt, und von oben wurden sie mit

einer Glaskuppel bedeckt. Auf die dem Fenster gegenüberliegende Seite der Kuppel wurde ein Stück mäßig in Wasser benetzten Filtrierpapiers geklebt. Zwischen Kuppel und Glasplatte ließ ich einen genügenden Raum, um den Luftwechsel innerhalb der also konstruierten Feuchtkammer zu sichern. Von Zeit zu Zeit wurde das Papier von neuem befeuchtet, um das Eintrocknen der Kulturen zu verhindern.

Bei Beobachtung der auf diese Weise zubereiteten Kulturen konnte man schon nach einigen Tagen in mehreren Schalen — später in allen — das Auftauchen grüner Punkte bemerken, die von Tag zu Tag immer grössere Dimensionen annahmen und schließlich verschiedene Arten von Kolonien bildeten.

Nachdem ich mich von der Reinheit dieser Kolonien überzeugt hatte, machte ich Abimpfungen kleiner Teile derselben auf die Oberfläche von schräg erstarrtem Wasseragar oder einfach in sterilisiertes Flußwasser, und indem ich die Kulturen unter den oben beschriebenen Bedingungen in Feuchtkammern konservierte, erhielt ich die Entwicklung vieler Algen mit den jeder von ihnen eigenen Kennzeichen.

Auf detailliertes Beschreiben der von mir erhaltenen Kulturen gehe ich nicht ein — erstens, weil eine Lösung der Frage, aus welchen Algen eine Kolonie gebildet sei, selbst bei mikroskopischer Untersuchung und zwar bei geringer Vergrößerung möglich ist, zweitens aber, weil diese meine Notiz das einzige Ziel hat, die Aufmerksamkeit der Gelehrtenwelt auf die von mir angeregte Frage zu lenken und Personen, die unter besseren Verhältnissen als ich arbeiten können, zum Heraustreten auf das weite Feld der Untersuchungen, das sich dank der Möglichkeit, Algen in reinen Kulturen auf festen und flüssigen Nährsubstraten zu erhalten, eröffnet, aufzufordern. Ich stelle nur das Ergebnis fest, daß 1-proz. Agarwasserlösung sich als sehr tauglich für den Wuchs und die Vermehrung der verschiedensten Algen erwiesen hat. Letztere den Agarkulturen enthoben, unterschieden sich, dem äußeren Aussehen nach, in nichts von Algen, die im Fluß oder Teich frei gewachsen waren.

Besonders stark hatten sich die Algen vermehrt, die den *Palmellaceae*, *Desmidiaceae* und *Diatomaceae* zugehören; auch die Fadenalgen hatten in den Kulturen ziemlich starke Kolonien gebildet. In den Kulturen von *Oedogonium* gelang es mir sogar, Bildung von Zoosporen und deren Austreten aus den Algenfäden zu beobachten; ihr weiteres Wachstum habe ich aber nicht beobachtet.

Die von mir in reinen Kulturen gezogenen Algen gehörten zu folgenden Gattungen: *Oscillaria*, *Tolypothrix*, *Aphanocapsa*, *Anacystis*, *Diatoma*, *Nitzschia*, *Navicula*, *Gomphonema*, *Pleurococcus*, *Rhaphidium*, *Cosmoecium*, *Protococcus*, *Scenedesmus*, *Penium*, *Closterium*, *Cosmarium*, *Oedogonium*, *Stigeoclonium* und anderen nicht näher bestimmten.

Die von mir zu Algenkulturen angewendete Nährsubstanz hat sich auch für die Vermehrung einiger Amöben als sehr dienlich erwiesen. Letztere wuchsen ausschließlich auf der Oberfläche von

Agar heran und nach Verlauf einer gewissen Zeit gingen sie in Ruhestand über (wurden kugelförmig und umgaben sich mit einer dicken Hülle). Auf frischen Agar übertragen, gaben sie neue Kulturen.

Trotz wiederholter Versuche und verschiedener Modifikationen bei der Aussaat ist es mir nicht gelungen, diese Organismen ganz von Bakterien abzusondern: als steter Begleiter und Kamerad erwies sich in allen Kulturen eine besondere Art Bacillen. Angesichts dieses Umstandes steigt unwillkürlich der Gedanke auf, daß zwischen Amöben und einigen Bakterien gewisse engere Beziehungen existieren müssen.

So weit mir bekannt ist, äußern sich im selben Sinne auch andere Autoren, die mit Kulturen von Amöben zu thun gehabt haben (A. Celli und Fiocca, Beijerinck, Schardinger).

Den neueren Beobachtungen Beijerinck's<sup>1)</sup> nach waren Wuchs und Vermehrung der von ihm auf festen Substraten ausgesonderten Amöben von einer größeren oder geringeren Zahl Bakterienkolonien oder von Hefen, die den Amöben als Nahrung dienten, unmittelbar abhängig. Um eine aus Gartenerde ausgesonderte *Amoeba nitrophila* zu kultivieren, benutzte der Autor filtrierte Agar-Agarlösung in destilliertem Wasser. Vorher entzog er dem Agar alle beigemischten organischen Stoffe, indem er ihn im Verlauf von 14 Tagen in sterilem Wasser spülte. Darauf setzte er ihm 0,2 Proz. Phosphorsalz ( $\text{NH}_4\text{NaHPO}_4 + 4\text{H}_2\text{O}$ ) und 0,05 Proz. Chlorkalium hinzu. Kulturen einer anderen Amöbe — *Amoeba zymophila* — gärenden Weintraubenmassen enthoben — erhielt er auf Malzgelatine.

Die Kulturen dieser Amöbe erwiesen sich als höchst interessant auch noch in der Hinsicht, daß es an ihnen die Existenz sehr enger Beziehungen zwischen *Amoeba zymophila*, *Saccharomyces apiculatus* und den Essigbakterien zu konstatieren gelang.

Beijerinck's Anweisungen sind in letzter Zeit von C. Gorini<sup>2)</sup> bestätigt worden, dem es gelungen ist, die *Amoeba zymophila* mit *Saccharomyces apiculatus* zusammen auf verschiedenen Kartoffelsorten zu kultivieren.

A. Celli und R. Fiocca<sup>3)</sup> waren die Ersten, die in der Litteratur Meldungen über künstliche Kultur verschiedener Amöben gemacht hatten; sie erhielten in Kulturen auf 5-proz. Wasserlösung des *Fucus crispus* mit oder ohne Zugabe von Bouillon, auf alkalisierten Kartoffeln, auf Ascitesflüssigkeit und auf Eiereiweiß die *Amoeba guttula*, *oblunga*, *undulans*, *coli*, *spinosa*, *diaphana*, *vermicularis* und *arborescens*<sup>4)</sup>.

Identische Resultate meldete späterhin Casper Miller<sup>5)</sup>, der

1) Beijerinck, Kulturversuche mit Amöben auf festen Substraten. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. Bd. XIX. 1896. No. 8.)

2) C. Gorini, Die Kultur der Amöben auf festem Substrate. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. Bd. XIX. 1896. No. 20.)

3) A. Celli und R. Fiocca, Centralbl. f. Bakteriologie etc. Bd. XV. 1894. No. 13/14 und Bd. XVI. 1894. p. 329.

Siehe auch meine kurze Notiz über meine Amöbenkulturen im „Wratsch“. 1894. No. 34. Ref. No. 922.

4) A. Celli, Die Kultur der Amöben auf festem Substrate. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. Bd. XIX. 1896. No. 14/15.)

5) C. Miller, Ueber aseptische Protozoenkulturen und die dazu verwendeten Methoden. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. Bd. XVI. 1894. No. 7.)



Amöben und Plasmodien studierte. Als Nährsubstrate benutzte er: Hanfaufguß, neutrale Bouillon (2—4 Teile auf 100 Teile Wasser) mit  $\frac{1}{2}$  Proz. Glycerin und einem kleinen Stückchen Sehne, verdünnten Heuaufguß mit  $\frac{1}{2}$  Proz. Trauben- oder  $\frac{1}{5}$  Proz. Milchzucker.

Franz Schardinger<sup>1)</sup> hat mit Hilfe von Stroh- oder Heuagar zwei Amöben aus Kanaljauche und den flüssigen Exkrementen eines fiebernden Typhuskranken ausgesondert. Eine, dem Kanalwasser entnommene, gesellt er den Monadinæ zoosporeæ zu und sieht sie als der Protomonas Spirogyrae Borzi nahestehend an; dahingegen stellt er die andere der Amœba coli gleich.

November 1896.

*Nachdruck verboten.*

## A form of apparatus and method of manipulation for the preparation of roll cultures of anaërobic organisms.

[A contribution from the laboratory of the Chemical Division of the  
United States Department of Agriculture.]

By

Ervin E. Ewell.

With 1 figure.

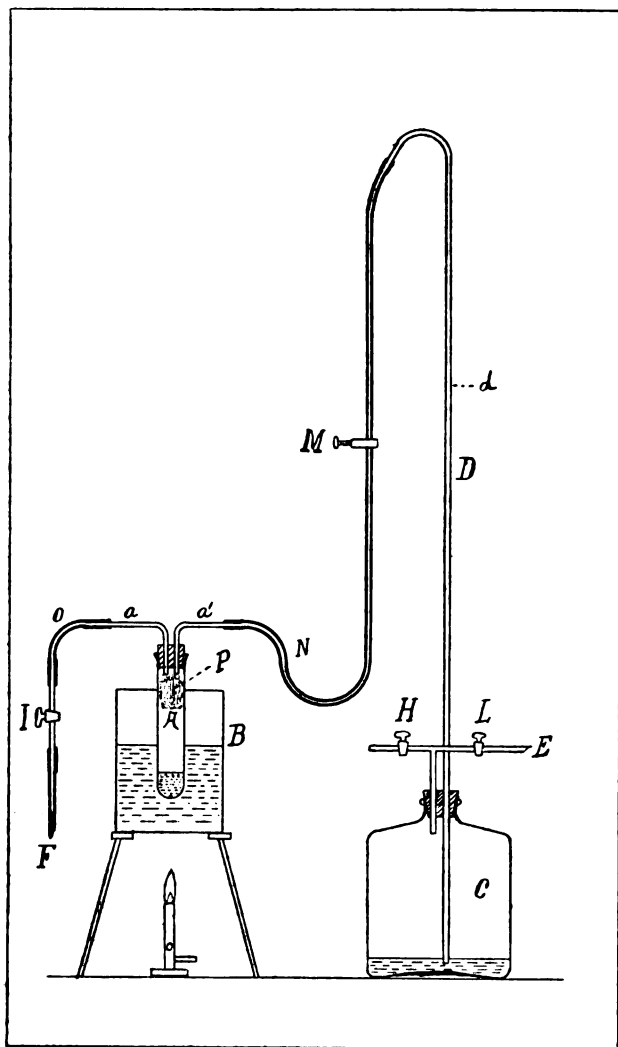
The tube is inoculated with the requisite number of organisms by the method usually employed for plate cultures and is placed in the water bath *B*, the temperature of which is kept at some convenient degree between the solidifying point of the medium and the thermal death point of the organism to be cultivated. The cotton plug *P* is pushed into the tube to make room for the rubber stopper carrying the glass tubes *a* and *a'*, in accordance with the method of Dr. Sternberg<sup>2)</sup>. The rubber stopper is carefully sealed in with sealing wax and the connections made with the thick-walled rubber tubes *N* and *O*, the latter being securely bound with wire. *E* leads to a vacuum service-pipe or, in lieu thereof, to some form of vacuum pump; *F* leads to a Kipp gas generator (see Max Kaehler and Martini's catalogue, No. 1149) or other form of apparatus which will furnish a constant supply of hydrogen, or whatever gas is to form the atmosphere of the culture.

*I* and *H* being closed, open *L* until the air is as far removed from the apparatus as possible; close *L* and open *H*. The mercury contained in the bottle *C* passes up the tube *D* until an equilibrium is established, when the point at which it comes to rest (*d*) is marked. If all parts of the apparatus are tight, the column of mercury will

1) F. Schardinger, Reinkulturen von Protozoen auf festen Nährböden. (Centralblatt f. Bakteriologie etc. Bd. XIX. 1896. No. 14/15.)

2) Manual of Bacteriology. 1892. p. 81.

remain at this height indefinitely; if it falls, all of the connections of glass tubing with rubber tubing must be carefully rewired. In order to remove all possibility of leakage around the stopper of *A*, the flame of a Bunsen burner is cautiously applied to the sealing



wax until it is softened sufficiently for the pressure of the atmosphere to force it into any crevice that it has not hitherto reached. When the column of mercury in *D* becomes stationary, showing that all leaks have been stopped, admit hydrogen by means of *I* until the vacuum in *A* is destroyed, which is evidenced by the falling of the

column of mercury in the tube *D*. Close *I* and *H*, and open *L* until exhaustion is again as complete as possible; close *L*, and open *H* and *I* successively. The alternate exhaustion and filling are repeated until there is no possibility of any air remaining in *A*, when the tubes *a* and *a'* are drawn apart and sealed in a flame. In order that the pressure within *A* may be only very slightly different from that of the atmosphere, *H* is not opened after the last exhaustion. *I* is opened and, when the acid reaches the same level in both parts of the gas generator, quickly close *M*, and then close *I* just as soon as the change of level in the generator shows that there is a slight excess of pressure in *A*. After sealing, the tube is quickly transferred to the ice block and rolled until the gelatine or agar is solidified. In case of agar the rolling must be very rapid to secure good results.

For the preparation of the hydrogen the author uses the purest zinc obtainable and passes the gas through a solution of silver nitrate for the removal of sulphur and arsenic, and then through distilled water. The gas generator should have ample capacity in both the acid reservoir and in the chamber which contains the zinc.

The apparatus just described is also of service for displacing the air from other forms of anaërobic culture apparatus. If the vacuum pump used is capable of giving a column of mercury 635 millimeters high in the tube *D*, five-sixths of the gases in the tube *A* will be removed at each successive exhaustion. A simple calculation will satisfy the operator in regard to the number of exhaustions necessary for his work.

Washington, D.C., Jan. 16, 1897.

---

## Referate.

---

**Teich**, Beitrag zur Kenntnis thermophiler Bakterien. (Hygienische Rundschau. 1896. p. 1094.)

Verf. suchte zu ermitteln, ob die von Karliński aufgefundenen thermophilen Bakterien der Thermalquelle von Ilidze in Bosnien (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. p. 471) einen konstanten Befund bildeten. Dieselben konnten überhaupt nicht wiedergefunden werden, vielmehr beschreibt Verf. eine andere Bakterienart, die sich bei einer Temperatur von 54—58° C gut entwickelte. Es sind teils kurze, teils zu langen Fäden vereinigte, teils an einem Ende keulenförmig verdickte Bacillen, die großes Sauerstoffbedürfnis und Eigenbewegung haben und endständige Sporen bilden. Auf Kartoffeln konnte kein Wachstum bei angegebener Temperatur erzielt werden. Es wird die Angabe vermißt, ob diese Bakterienart nicht auch bei niederen Temperaturen gedeiht.

W. Kempner (Berlin).

**Catiano, L.,** Beiträge zur Morphologie der Bakterien. Ueber zwei fadenbildende Bacillen. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. VII. 1896. Heft 3. p. 537—542.)

Verf. fand unter einer Reihe Bakterien, die er aus dem Vaginalsekret züchtete, neben anderen unbekannten, deren Veröffentlichung er sich vorbehält, folgende 2 Arten, die besonderes bakteriologisches Interesse darbieten. Beide gehören den chromogenen Arten an und, obwohl sie nur geringe Unterschiede aufweisen, glaubt sie Verf. doch als verschieden betrachten zu müssen.

Verf. nennt sie *Bacillus rubiginosus* und *coccineus* und stellt die Differenzen folgendermaßen zusammen:

**Bac. rubiginosus.**

Entfärbt sich nach Gram.  
Sterilisierte Milch bleibt unverändert.  
Die Farbe bleibt unverändert auf den verschiedenen Nährböden.  
Die oberflächlichen Kolonien der Gelatineplatten haben einen ausgebuchteten Rand, die Peripherie ist durchsichtig, der Farbstoff körnig abgelagert.  
Die tieferen Kolonien sind rund, haben einen deutlichen Gürtel, der dunkler gefärbt ist, als das Centrum.

**Bac. coccineus.**

Färbt sich nach Gram.  
Sterilisierte Milch wird sauer und koaguliert.  
Die Farbe auf Glycerinagar ist karmoisinrot, auf Kartoffeln orangegeb.  
Oberflächliche Kolonien mit kreisrundem Rand, Peripherie vom Farbstoff gleichmäßig tingiert, wie das Centrum.  
Die tieferen Kolonien sind oval und vom Farbstoff bis zur Peripherie gleichmäßig durchsetzt.

Behufs Färbung der Geißeln ist die Anwendung des Loefflerschen Beizverfahrens am günstigsten. Nur muß man auf 10 ccm der nicht zu frischen Beize 6—10 Tropfen einer frisch bereiteten 1-proz. ( $\frac{1}{4}$  normalen) Natriumhydratlösung zusetzen. Abspülen der Beize darf nur mit Wasser bewirkt werden, nicht nachträglich mit absolutem Alkohol.

Verfertigt man Präparate aus 2—4 Tage alten Agarkulturen, so findet man von den Bacillen auslaufend sehr große, die Bacillen um das 10—12-fache an Länge übertreffende, stark schraubenförmige Geißeln, die längsten wohl, die bisher bekannt sind.

Aeltere Kulturen zeigen nur selten noch schraubenförmige Geißeln, meist treten dann lange, dicke, gerade verlaufende Fäden auf, die sich mit dem der Nachbarbacillen verflechten. 10-tägige Kulturen bieten das schönste Bild, wo die Bacillen in ihrem Fadengeflechte wie die Spinnen im Netz sitzen.

Die Lücken zwischen den einzelnen Fäden werden oft derart mit Farbstoff durchtränkt, daß eine gleichmäßige Plasmaschicht um den Bacillenhaufen entsteht, von der aus die Fäden strahlenförmig ausgehen.

Im Polarisationsapparat verhalten sich die Fäden nicht anders, wie die Geißeln.

Zwei Tafeln enthalten photographische Abbildungen.

E. Roth (Halle a. S.).

**Bial, Manfred,** Ueber den Mechanismus der Gasgärungen im Magensaft. Zugleich ein Beitrag zur Biologie des Hefepilzes. (Arch. f. experim. Pathologie u. Pharmakologie. Bd. XXXVIII. 1896. Heft 1/2. p. 1—34.)

Da die Salzsäure eine starke Desinfektionskraft gegenüber der Hefe hat, dieser Einfluß im gärenden Magensaft jedoch nicht zum Ausdruck gelangt, so muß im Magensaft sich ein Stoff finden, der diesen Einfluß zu nichte macht. Eine systematische Durchsuchung der Bestandteile des Magensaftes führte dann zu einer bisher unbekannten derartigen Wirkung der Salze bzw. des Kochsalzes.

Wir werden zu der Idee gedrängt, daß der durch NaCl beispielsweise gesetzte Reiz aus der Zelle gewissermaßen die größte Arbeitsmöglichkeit herausholt; es liegt dann im Kreise unserer biologischen Vorstellungen, die Lebensarbeit sich nicht allein abhängig zu denken von der ausreichenden Beschaffenheit der Nahrung, sondern auch von der Anregung und Anreizung zur Lebensthätigkeit.

Verf. beschränkt sich in seinen Versuchen auf die Untersuchung der ausgesprochenen Beziehungen zwischen NaCl und Hefezelle; gelegentlich aber machte er die Wahrnehmung, daß anderen Salzen ähnliche Eigenschaften zukommen. Es stellt somit ein berechtigtes Untersuchungsthema dar, zu erproben, inwieweit auch bei anderen Mikroorganismen als Typen einfachen Zellenlebens und anderen Salzen solche Kräfte zum Ausdruck kommen.

7 Abbildungen finden sich im Texte. E. Roth (Halle a. S.).

**v. Scanzoni, Friedrich, Ueber die Resorption des Traubenzuckers im Dünndarm und deren Beeinflussung durch Arzneimittel. (Zeitschrift für Biologie. 1896. p. 462.)**

Die Versuche an Hunden haben folgendes Resultat ergeben: 1) Die ätherischen Oele, das Senföl, der Alkohol und die scharfen Gewürze (Pfeffer und Oregan) haben in gewissen Konzentrationen einen unzweifelhaft fördernden Einfluß auf die Resorption des Traubenzuckers im Darne. Im Magen wird die Resorption durch diese Stoffe um das 5fache gesteigert; im Darne hingegen ist ihr Einfluß ein viel geringerer und beträgt die Steigerung fast immer nur wenige Prozente. Dieser auffallende Unterschied hängt offenbar mit der verschiedenen Organisation des Magens und Darmes zusammen. Der Magen resorbiert wässerige Lösungen von Zucker nur sehr unvollkommen, örtlich reizende Stoffe haben daher Gelegenheit, hier ihren mächtigen fördernden Einfluß zu entfalten. Im Darne hingegen ist das Resorptionsvermögen schon für einfache Zuckerlösungen ein nahezu ideales, an dem die genannten Mittel nur wenig mehr zu bessern vermögen.

2) Die Konzentration, in der die untersuchten örtlichen Reizmittel auf die Resorption im Darne fördernd einwirken, muß erheblich geringer als im Magen sein. 1 Tropfen Senföl in 200 ccm Wasser verteilt, hat auf die Magenschleimhaut keinerlei schädigenden Einfluß geübt, sondern nur deren Resorptionsvermögen bedeutend gesteigert. Diese Konzentration im Darne ließ deutlich Störungen (Anfänge von Entzündungen) zurück und die Resorption war vermindert. Erst bei noch größerer Verdünnung war von solcher Schädigung des Darmes nichts mehr zu bemerken und die Resorptionsfähigkeit deutlich erhöht.

Die Schleimhaut des Darmes ist also für örtliche Reizmittel viel empfindlicher als jene des Magens. Ebenso verhält es sich in den Nahrungsstoffen selbst wie Brandl gefunden hat. Stift (Wien).

**Köbner, Heinrich**, Ueber die Veränderungen des Rohrzuckers im Magen-Darmkanal. (Zeitschr. f. Biol. 1896. p. 404.)

Um verschiedenen irrigen Folgerungen in der Litteratur vorzubeugen, giebt Verf. einen kurzen Auszug seiner Untersuchungen über die gesamte Rohrzuckerverdauung, welche im Jahre 1859 durchgeführt wurden und verschiedenen Autoren entweder entgangen oder von denselben verschiedentlich irrig aufgefaßt wurden. Die Versuche wurden an Hunden und Kaninchen ausgeführt, erstere meistens nach mehrtägiger ausschließlicher Fleischkost mit verschiedenen Mengen Rohrzucker, letztere mit Mohrrüben gefüttert. Die Resultate waren: a) bezüglich der Magenverdauung, daß Rohrzucker weder in künstlichen, 2—4 Tagen bei 40° digerierten Mischungen mit normalem frisch entzogenem und filtriertem Magensaft (auch nicht nach seiner Neutralisation), noch bei normaler natürlicher Verdauung und streng kontrollierter Kost jemals — binnen 1  $\frac{1}{2}$  bis 8 Stunden — in Traubenzucker umgewandelt wird. b) Im Dünndarme beginnt alsbald die Invertierung.

Der Rohrzucker ist von allen Zuckerarten der den Verdauungssäften am längsten widerstehende. Kleine Mengen unveränderten Rohrzuckers ließen sich sogar im Blute der Vena portar. noch einige Stunden nach der Fütterung nachweisen; neben diesen (durch Inversion mit HCl ermittelten) kleinen Mengen von Rohrzucker fand sich darin nur ein einziges Mal reduzierender Zucker. Stift (Wien).

**Klöcker, Alb. und Schlönnig, H.**, Que savons-nous de l'origine des Saccharomycetes? (Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. Vol. IV. Livr. 2. Copenhague 1896. Avec 5 figures dans le texte.) [Dänischer Text 60 p., französischer Text 33 p.]

Zwei vorläufige Mitteilungen über die in dieser Arbeit mitgeteilten Resultate wurden in dieser Zeitschrift, Bd. I. 1895. No. 22/23. p. 777 und Bd. II. 1896. No. 6/7. p. 185 veröffentlicht. Indem Ref. übrigens die Leser auf diese zwei Abhandlungen hinweist, soll hier nur daran erinnert werden, daß die Verff. einestheils die Unrichtigkeit der von Takamine, Juhler, Jörgensen und Sorel hervorgebrachten Untersuchungen, welche die genetische Verbindung der Saccharomyceten mit verschiedenen Schimmelpilzen zu zeigen beabsichtigen, darthun, und daß sie andernteils zahlreiche Thatfachen hervorziehen, welche alle darauf deuten, daß im Gegentheil die typischen Saccharomyceten, ebensogut wie die Exoasceen, mit welchen sie die morphologischen Entwicklungsformen gemeinsam haben, als selbständige Pilze aufgefaßt werden müssen.

In dieser jetzt publizierten Abhandlung findet sich teils das, was in den genannten zwei vorläufigen Mitteilungen erwähnt wurde, ausführlich behandelt, teils eine Uebersicht über die Geschichte der genannten Frage von 1870 ab bis zu unseren Tagen. Außerdem wird eine neue große Versuchsreihe mitgeteilt, in welcher die Verff. durch Aussäen von Saccharomycetes zellen experimentierten, um möglicherweise die vermeintlichen Stammformen unter den Schimmelpilzen zu bekommen. Unter verschiedenen Verhältnissen wurden sowohl vegetative

als sporentragende *Saccharomyces*zellen auf verschiedenen Nährsubstraten, namentlich verschiedenen Früchten, gezüchtet; auch ließen die Verff. Vögel und Insekten (in betreff der Säugetiere haben Brefeld und E. Chr. Hansen früher ein negatives Resultat bekommen) die Zellen verzehren, um dadurch Aufschlüsse zu bekommen, ob die Zellen möglicherweise durch eine solche Behandlung einer Umbildung in der gewünschten Richtung hin unterzogen werden können. Außerdem wurden zahlreiche Versuche von demjenigen Gesichtspunkte aus angestellt, nämlich, daß in der Natur keine Reinulturen auftreten, und daß eine Symbiose vielleicht notwendig sei, um die genannte Entwicklung hervorzurufen. Alle Versuche gaben indessen ein negatives Resultat.

Die Abhandlung ist von 5 Abbildungen begleitet; dieselben zeigen, auf welche Weise die in der freien Natur vorhandenen Früchte, die für die Experimente der Verff. angewandt wurden, eingesperrt wurden und wie der für diesen Gebrauch benutzte Glaskasten konstruiert war.

Glöcker (Kopenhagen).

**Bächler, C.,** Beiträge zur Erforschung des Gärungsverlaufs in der Emmenthaler Käsefabrikation. (Schweiz. landw. Centralbl. Neue Folge. Bd. XV. 1896. 1—4; nach Vierteljahrsschr. über die Forschungen auf dem Gebiete der Chemie der Nahrungs- und Genußmittel. 1896. Heft 2.)

Verf. stellt die Erfahrungen des Praktikers den wissenschaftlichen Ergebnissen gegenüber und nimmt Bezug auf die widersprechenden Ansichten der Forscher betr. die Käsegärung und den Käsereifungsprozeß. Namentlich bezüglich Baumann's *Bacillus casei diatrypticus* und auf die von v. Freudenreich'sche Ansicht, daß durch Kochsalz die Käseblähung unterdrückt werden könne, glaubt Verf., daß die Laboratoriumsversuche der Praxis nicht entsprechen und deshalb falsche Schlußfolgerungen gezogen werden könnten.

Der *Bacillus casei diatrypticus* mußte entweder ganz vernichtet oder wenigstens doch geschwächt werden, da bei der Käseerei die Temperatur von 55° vielfach überschritten werde. Ferner ergaben praktische Versuche, daß der von v. Freudenreich empfohlene Kochsalzgehalt zur Hintanhaltung von Käseblähungen ein negatives Resultat, bisweilen sogar die entgegengesetzte Wirkung habe.

Die Begriffe Gärung und Reifung will Verf. auseinander gehalten wissen und tritt der Frage der Mitwirkung der Mikroorganismen in diesen Prozessen näher und betont, daß der Säuregrad der Milch vor und nach dem Dicken und in den einzelnen Phasen bis zum Molkenabfluß von dem gepreßten Käse von Wichtigkeit sei. Mit dem Labprozeß sei ein beträchtliches Sinken der Acidität verbunden. Dieselbe betrug nach den angestellten Versuchen fast immer 1.3—1.5, während der ursprüngliche Säuregehalt der Milch zwischen 2.5—3.8° sich bewegte. Die bisher geleugnete Nachwirkung des Labzusatzes scheint demnach doch stattzufinden. Für die Lochbildung im Käse versucht Verf. eine auf praktischer Erfahrung beruhende Erklärung zu geben. Seine Beobachtungen, betr. die Käsegärung, faßt Verf. in folgenden Sätzen zusammen. 1) Zur Erforschung der normalen wie

der abnormalen Gärthätigkeit unserer Emmenthaler Käse ist in erster Linie die genaue Kenntnis der Wirkung des Labfermentes auf die Kontraktion der Käsmassen notwendig. Ebenso ist der Einfluß der verschiedenen Bereitung der Lablösungen auf die Gerinnung der Milch auf die spätere Lochbildung im Käse genau zu verfolgen. 2) Dieses Studium hat sich auch auf die Veränderungen der Reaktionen zu erstrecken, dies hauptsächlich in Rücksicht auf die Entwicklung der in Frage stehenden Gärungs- und Reifungsorganismen. 3) Diese Untersuchungen können nur, wenn an die Praxis angelehnt, von Erfolg begleitet sein.

Baier (Berlin).

Solomin, P., Ueber die beim Erhitzen der Milch ausfallenden Eiweißmengen. (Archiv für Hygiene. Bd. XXVIII. 1896. p. 43).

Es wurde festzustellen gesucht, welcher Anteil oder wie viel Eiweißsubstanzen der Milch bei verschiedenen, eine bestimmte Zeit hindurch gleichmäßig einwirkenden Temperaturgraden zur Abscheidung kommen. Die herrschende Ansicht ist, daß beim Sieden der Milch das Albumin gerinnt, während das Kasein unverändert bleibt; ob auch bei Temperaturen unterhalb des Siedepunktes eine Abscheidung von Eiweißkörpern in der Milch erfolgt, und wie sich die Eiweißkörper der Milch bei Temperaturen über dem Siedepunkt verhalten, darüber liegen Angaben nicht vor. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß je 100 bzw. 50 ccm Milch im Wasserbad eine viertel bis eine Stunde bei der gewünschten Temperatur erhalten, worauf dann die Untersuchungen vorgenommen wurden.

Im großen und ganzen werden von 60° ab mit zunehmender Temperatur auch größere Eiweißmengen zur Abscheidung gebracht, doch finden sich erhebliche Schwankungen, wofür nicht nur die Konzentration und der Salzgehalt, sondern auch ohne Zweifel der Fettgehalt der Milch maßgebend sein dürften. Sicherlich ist auch der Säuregrad von Einfluß, doch hat sich dies noch nicht feststellen lassen. Beim Erhitzen der Milch auf 110—120° wurden im allgemeinen nicht mehr Eiweißkörper als bei 100° abgeschieden, wobei sich allerdings eine gewisse Abhängigkeit von der Zeit der betreffenden Temperatureinwirkung geltend machte. Erst beim Erhitzen auf 130—140° werden Albumin und Kasein fast vollständig abgeschieden, und gleichzeitig werden etwa die Hälfte aller Aschenbestandteile von dem entstehenden Koagulum eingeschlossen, und zwar wird, wie die in den Aschen der Rückstände vorgenommenen Phosphorsäurebestimmungen ergeben, wohl aller an Phosphorsäure gebundene Kalk mitgefällt.

Stift (Wien).

Escombe, F., Beitrag zur Chemie der Membranen der Flechten und Pilze. (Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XII. 1896. p. 288.)

Winterstein hat gezeigt, daß Chitin oder ein sehr ähnlicher Körper in den Membranen verschiedener Pilze enthalten ist, desgleichen ist seit langer Zeit bekannt, daß die Membranen von Algen aus Cellulose bestehen. Es war nun zu erwarten, daß man beide Körper



aus Flechten erhalten werde, da diese Pflanzen, sowohl nach der Analyse von Schwendener, als auch nach der Synthese von Bonnier aus einer symbiotischen Gemeinschaft von Pilzen und Algen bestehen.

Verf. hat nun zuerst *Cetraria islandica* in den Kreis der Untersuchung gezogen und gefunden, daß die Hyphen-Membranen hauptsächlich aus Lichenin, einem Galactan, Isolichenin und einem Paragalactan bestehen und weder Chitin, einen Chitin ähnlichen Körper, noch Cellulose enthalten. Die Algen-Membranen scheinen dagegen wesentlich aus einer Cellulose zu bestehen.

Weiter wurden *Peltigera canina* der Untersuchung auf Chitin und Cellulose unterworfen, wobei sicher die Abwesenheit des letzten Körpers festgestellt werden konnte. Ob Chitin oder ein ähnlicher Körper (Chitosan) vorhanden war, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

Der gleichen Untersuchung wurde auch *Evernia prunastre* unterworfen, wobei gefunden wurde, daß die Membranen der Algenzellen aus einer Cellulose bestanden, daß aber der Hyphenrest nicht aus Chitosan zusammengesetzt war.

Zur weiteren Untersuchung kam noch das *Sclerctium* der *Claviceps purpurea*, doch gelang es hier nicht, sichere Resultate zu erhalten.

Stift (Wien).

**Magnus, P.,** Parallelförmigen unseres *Uromyces scutellatus* Lév. in weit entfernten Ländern. (Berichte d. dtsh. botan. Gesellsch. 1896. Jahrg. XIV. Heft 9. p. 374—377.)

Von unseren Wolfsmilchrosten ist *Uromyces scutellatus* Lév. dadurch ausgezeichnet, daß das Mycel ganze Sproßsysteme der befallenen Arten durchzieht und auf der Unterseite der meisten Blätter erst Spermogonien und dann Teleutosporenlager, seltener auch wenige Uredosporen bildet. Parallelförmigen gleicher Entwicklung, aber von abweichendem Bau der Teleutosporenwand, erhielt Verf. in dem *U. natalensis* P. Magn. von Natal (auf *Euphorbia Gueinzii*) — die Teleutosporenmembran ist hier ähnlich der von Aecidiosporen aus senkrecht zur Oberfläche verlaufenden Stäbchen aufgebaut — und in *U. andinus* P. Magn. aus den Cordilleren Chiles (von *Euphorbia chilensis*, *portulacoides*, *collina* etc.). Verf. giebt einige Gründe an, die dafür sprechen, daß die 3 Arten unabhängig voneinander in den drei Gebieten aus verwandten Arten hervorgegangen sind. Unser *U. scutellatus* Lév. dürfte aus Arten mit vollständigem Fruktifikationswechsel sich entwickelt haben. Bei dem nordamerikanischen *Uromyces euphorbiae* (Schwein.) C. et P., wie bei dem südeuropäischen *U. proëminens* (D.C.) Pass. durchzieht ein Aecidien bildendes Mycel die ganzen Sprosse, während das die Uredo- und Teleutosporenlager bildende Mycel lokal bleibt, ebenso verhält sich *U. tuberculatus* (Fckl. p. p.) Magn. auf *Euphorbia exigua*. Dagegen haben wir in Europa in dem *U. excavatus* (D.C.) Magn. eine Art, die sowohl ein Aecidien bildendes als ein Teleutosporen bildendes, die ganzen Sprosse

durchziehendes Mycel besitzt und gleiche Entwicklung hat *U. tinctoriicola* P. Magn. aus dem syrischen Kurdistan (auf *Euphorbia tinctoria* Briss.). Bei unserem *U. scutellatus* ist nun nur noch ein die Sprosse durchziehendes Spermogonien und Teleutosporen bildendes Mycel vorhanden, und dürfte daher die Teleutosporenbildung allmählich auf das die Sprosse durchziehende Mycel übergegangen sein, an das bei den Arten mit vollständigem Fruktifikationswechsel die Bildung der Spermogonien (die erhalten blieben) und Aecidien gebunden war. In einer Schlußbemerkung weist Verf. noch darauf hin, daß v. Lagerheim später auch einen Rubusrost *U. andinus* benannt habe, der daher eine neue Benennung fordert und den Namen *Uromyces Lagerheimii* P. Magn. erhält.

Ludwig (Greiz).

Sajó, C., Der Spargelrost. (Oesterreichisches Landwirtschaftliches Wochenblatt. 1896. p. 410.)

Der Spargelrost (*Puccinia asparagi* DC.) ist imstande, eine Anlage zu Grunde zu richten. Im Herbst und Winter treten kohlschwarze Pusteln in Form von Punkten, Flecken und Streifen auf der Epidermis auf. Die sich hier entwickelnden Sporen sind Winter- oder Teleutosporen des Spargelrostes, die erst im künftigen Jahre zur Keimung gelangen. Die rostrote Sommerform des Pilzes erzeugt Uredosporen, die sich ins Ungeheuere vermehren. Gegen den Herbst zu hört die Bildung der Uredosporen nach und nach auf und es beginnt die Entwicklung der schwarzen Teleutosporen. Außer diesen beiden Formen, die sich von einander durch das freie Auge nach der Farbe unterscheiden lassen, giebt es noch zwei frühere Entwicklungsstadien, die sich im Frühjahr bilden. Der Spargelrost besitzt daher wie der Getreiderost vier Entwicklungsstadien, und zwar 1) die Spermogonien, im Frühjahr, lichtgelb, 2) Aecidien, im Frühjahr, orangerot, 3) Rost- oder Uredoform, im Sommer, rost- oder zimmetrot, 4) Teleutosporen (Wintersporen), vom Herbst an, schwarz.

Nach den bisherigen Untersuchungen ist anzunehmen, daß der Spargel die einzige und ausschließliche Wirtspflanze für den Spargelrost ist. Sicher ist ferner, daß der Rost die genannten vier Stadien in regelmäßiger Aufeinanderfolge durchmacht. Wenn es daher möglich ist, die zwei ersten Entwicklungsstadien des Pilzes zu vernichten, so ist die Bildung des ausschließlich gefährlichen Roststadiums im Sommer unmöglich gemacht. Dieser Umstand giebt einen Fingerzeig für die erfolgreiche Bekämpfung und wird Verf. darauf noch zurückkommen. Bemerkenswert ist die Widerstandsfähigkeit des wilden Spargels gegen den Spargelrost. Möglicherweise liegt aber die Ursache darin, daß die weit auseinanderstehenden Stämmchen einer Infektion nicht so leicht zugänglich sind, wie die in einer größeren Anlage nebeneinander gepflanzten.

Stift (Wien).

Hollrung, M., Vorsicht gegenüber dem Auftreten der Fritfliege im Getreide. (Zeitschrift der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen. 1896. p. 418.)

Die Fritfliege hat in manchen Gegenden Deutschland eine große

Verbreitung gefunden und ist der Ausfall der Getreideernte dadurch ein so bedeutender geworden, daß an Abwehr gedacht werden muß. Die Fritfliege vermehrt sich im Verlauf eines Jahres dreimal, in dem sie eine Wintergeneration (am Fuß des Wintergetreides), eine Sommergeneration (am Fuß des Sommergetreides) und eine zweite Sommergeneration (am Kopf des Sommergetreides) ausbildet. Nachdem die Bekämpfung der Sommergeneration des Schädlings aussichtslos ist, so empfehlen sich für die Beseitigung der Wintergeneration folgende Maßregeln: Anlage von Fangstreifen, Unterpflügen des Ausfalles vor Winter, thunlichste Verzögerung der Bestellung von Wintersaaten bis nach dem 16. September, Untersuchung des „ausgewinterten“ Getreides und unverzügliches Unterpflügen der in stärkerem Maße von Fritfliegen ergriffenen Wintersaaten. Stift (Wien).

**Aderhold, Rud., Die Fusicladien unserer Obstbäume.**

I. Teil. [Aus der botanischen Abteilung der Versuchsstation des Königlich. pomologischen Instituts Proskau.] (Landw. Jahrbücher Bd. XXV. 1896. p. 876 ff. Mit 3 Tafeln.)

Die vorliegende Arbeit behandelt in ausführlicher Darstellung einen Teil der Resultate, welche Aderhold bei seinen mehrjährigen Untersuchungen über die Fusicladien gewonnen, und über die er zum Teil schon kurz in den Berichten der Deutschen botanischen Gesellschaft etwas mitgeteilt hat. Die Arbeit ist die ausgereifte Frucht mehrerer Jahre und unterscheidet sich auch in der Darstellung sehr zu ihrem Vorteil von den meisten phytopathologischen Arbeiten, bei denen man vielfach die Selbstkritik, ja sogar das erste Erfordernis einer solchen Arbeit, den Infektionsversuch, vermißt. Der Entwicklungskreislauf der beiden behandelten *Fusicladium*-formen im Lauf des Jahres ist durch die Arbeit des Verfassers vollständig aufgeklärt und so unsere Erkenntnis bis zu einem befriedigenden Abschluß gebracht.

Nach einem Rückblick auf die Geschichte der Gattung *Fusicladium* und der Obstbaum-Fusicladien insbesondere, sowie der durch dieselben erzeugten Krankheiten wendet sich Verf. zunächst zu dem *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fekl. das die Rostflecken auf Blättern und Früchten des Apfelbaums erzeugt. Auf den Trieben suchte ihn Aderhold bisher vergeblich. Auf den Blättern, die er mit Vorliebe befällt, wächst der Pilz rein epiphytisch; nur die Cuticula vermag er von der Epidermis abzuheben und unter ihr sich zu verbreiten, während er in das gesunde Gewebe nicht aktiv eindringt. Die Ernährung erfolgt also wohl durch osmotischen Austausch zwischen den Epidermiszellen des Wirts und dem Mycel. Uebrigens sterben die ersteren bald ab und kollabieren dann; auch die Cuticula reißt bald auf, was natürlich an dieser Stelle eine gefährliche Steigerung der Transpiration zur Folge hat, die mittels Kobaltchlorürpapier leicht nachzuweisen ist und, je nachdem die Wirkung des Vertrocknen mehr oder weniger begünstigt, zu einem schnellen oder langsamen Absterben des Mesophylls, das von oben nach unten fortschreitet, führt. Schon vorher treten die bekannten Konidienträger auf.

Das Auftreten auf der Frucht ist ganz ähnlich; jedoch ver-

schmelzen hier die subkutikularen Mycelfäden sehr bald zu einem immer mächtiger werdenden Stroma, und außerdem dringen häufig Hyphen in das Fruchtfleisch ein, meist intercellular wachsend. Das letztere wird dadurch zur Bildung einer Korkschicht angeregt, welche den kranken Fleck isoliert, aber die Verbreitung des subkutikularen Mycels seitlich über den Fleck hinaus natürlich nicht zu hindern vermag.

Auf den abgefallenen toten Blättern findet man im Herbst oder Anfang Winter kugelige pseudoparenchymatische Körper, die sich im Frühjahr zu Peritheciën entwickeln. Diese letzteren sind als *Venturia chlorospora* Ces., wie Verf. schon anderwärts kurz mitgeteilt hat, längst bekannt. Die Sporen werden einzeln ejakuliert und gelangen durch den Wind oder Insekten u. dergl. auf die sich eben entfaltenden Apfelbaumblätter.

Andere Fruchttorgane als Peritheciën und die bekannten Konidienträger wurden nicht gefunden; was sonst noch an Pykniden u. dergl. auf den abgefallenen Blättern vorkam, erwies sich als nicht zu *Fusicladium* gehörig. Dagegen wurde der bestimmte Nachweis der Zusammengehörigkeit von *Fusicladium dendriticum* und *Venturia chlorospora* nicht nur durch künstliche Kultur, sondern auch durch Infektionsversuche geliefert.

Allerdings wurden bei Kultur auf künstlichen Substraten aus Konidien und Ascosporen nur Peritheciënanlagen erhalten, die aber auf keinerlei Weise zum Abschluß ihrer Entwicklung zu bringen waren. Dagegen gelang es leicht, *Fusicladium* aus den Ascosporen zu erziehen. Interessant ist die Beobachtung einer gewissen Periodicität bei den künstlichen Kulturen unseres Pilzes: Die Konidienproduktion an den Mycelien nahm gegen den Herbst hin stetig ab, so daß im Winter aus den spärlichen, von früheren Kulturen geernteten Konidien nur noch fast unfruchtbare, sonst aber kräftige und große Mycelien hervorgingen, gleichgiltig ob die Kulturreihen ursprünglich von Ascosporen oder von Konidien sich ableiteten.

Bezüglich der Infektionsversuche sei kurz hervorgehoben, daß die Infektion von Blättern gelang mit Ascosporen, mit Konidien von Blättern, Früchten und künstlichen Kulturen, von Früchten mit Konidien von Blättern und Früchten. Andere Kombinationen kamen nicht zur Ausführung. Leider mußte ein Teil der Infektionsversuche an wenig empfänglicher Sorte ausgeführt werden. Wie große Unterschiede in der Empfänglichkeit für Rost zwischen den einzelnen Sorten bestehen, darüber müssen wir auf das Original verweisen.

Verf. wendet sich dann zu dem Birnenrost (*Fusicladium pirinum* (Lib.) Fckl.), der dem Apfelrost außerordentlich ähnlich ist, wenigstens in seinem makroskopischen Verhalten. Außer Blättern und Früchten befällt *Fusicladium pirinum* aber auch die Zweige, und wird dadurch besonders schädlich. Auch die Sporen weichen durch ihre spindelförmige Gestalt von den an unteren Ende verbreiterten des Apfel-*Fusicladium* ab, und die Konidienträger sind nicht wie bei diesem quergebunzelt, sondern mit knorrigem Ende versehen. In den einjährigen Trieben — und nur solche vermag der Pilz zu befallen — verursacht er den sog. Grind, welcher infolge der an ausgedehnten Schorfstellen

enorm gesteigerten Verdunstung meist zum Vertrocknen des über der Grindstelle stehenden Zweigendes noch im Laufe des Sommers oder namentlich während des folgenden Winters und Frühjahrs führt. An diesen Grindstellen bildet der Pilz ein besonders dickes Stroma. An den vorjährigen, am Boden liegenden Birnblättern treten dann im Frühjahr die gruppenweise zusammensitzenden Perithecieen einer *Venturia* auf, die durch Form und Lage der Sporen sich von der *Venturia chlorospora* scharf unterscheidet und darin der *Venturia ditricha* Fries der Birkenblätter gleicht. Aber auch von diesem Pilz ist die *Venturia* der Birnblätter, deren Zusammenhang mit *Fusicladium pirinum* außer Zweifel gesetzt wurde, durch die Größe der Perithecieen, die Gestalt der Ascosporen, besonders aber durch die Konidienform verschieden. Verf. erhebt sie deshalb zu einer besonderen Species, die er *Venturia pirina* (Cooke) Ad. nennt. Andere Mycel- und Fruchtformen des *Fusicladium pirinum* wurden nicht gefunden, insbesondere auch keine Sklerotien.

Bei der künstlichen Kultur wurden sowohl aus den Konidien des *Fusicladium* wie aus den Ascosporen der *Venturia pirina* das Mycel und die Konidienträger des *Fusicladium pirinum* erhalten. Perithecieenanlagen traten ebenfalls auf; ihre Weiterkultur mißglückte aber ebenso wie bei *Venturia chlorospora*. Außer durch die Perithecieen überdauert der Pilz aber auch durch die Stromata seiner Zweigvorkommen den Winter, indem dieselben jederzeit durch Wärme und Feuchtigkeit zur Sporenbildung angeregt werden.

Auch bei *Fusicladium pirinum* ist die Neigung der einzelnen Sorten zur Erkrankung unter gleichen Verhältnissen sehr verschieden. Uebertragungen wurden vorgenommen von Konidien vom Blatt und aus künstlichen Kulturen auf Blätter und Zweige, von Ascosporen auf Blätter, von Konidien von Zweigschorfstellen auf Blätter, von solchen von Früchten auf Zweige, alle ganz oder teilweise mit positivem Erfolg, so daß auch hierdurch die Zusammengehörigkeit von *Venturia pirina* und *Fusicladium pirinum* bestätigt wird.

Bezüglich der Art des Eindringens muß auf das Original verwiesen werden. Mit großem Interesse dürfen wir dem zweiten Teile der Arbeit entgegensehen, der unter anderem insbesondere die Bekämpfungsfrage, die Bedingungen für eine erfolgreiche Infektion und andere *Fusicladium*- und *Venturia*formen behandeln wird.

Behrens (Karlsruhe).

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Betting, C. F.**, Ein neuer Objekthalter für Mikrotome. (Zeitschr. f. angewandte Mikroskopie. Bd. II. 1896. Heft 8. p. 236—237.)

Der neue Halter ist für größere Paraffinblöcke geeignet, während der bisherige nur kleinere Blocks einzuspannen gestattete. Die bewegliche Querwand läuft auf einer gesägten Leitstange und wird hier durch eine Schraube fixiert, so daß Paraffin- oder Celloidineinschlüsse bis zu 5 cm Seitenlänge noch mit dem einfachen Instrumente zu schneiden sind. Die höchste Feinheit des Schnittes wie auf einem Schlittenmikrotom ist natürlich dabei nicht zu erreichen. Dafür gestattet die Vorrichtung außerdem das Schneiden von allen Seiten bei Anwendung hinreichend langer Messerklingen.

E. Roth (Halle a. S.).

**Kluge**, Eine praktische Methode zur Herstellung von Agar für Kulturen. (Zeitschr. f. angewandte Mikroskopie. Bd. II. 1896. Heft X. p. 237.)

Verf. empfiehlt diesen Nährboden ohne Zusatz von Pepton und Nährmedien, auf welchem in Marpmann's bakteriologisch-chemischem Laboratorium in Leipzig die meisten kultivierten Spalt- und Hefepilze wachsen.

100 g Agar-Agar kalt abgewaschen (Waschwasser dient als Diatomeenmaterial) werden in Kessel mit 50 l Wasser gebracht, erwärmt, 200 g Carrhagen-pulvis zugesetzt, das in kaltem Wasser angerieben ist, dann Kochen bis zur vollständigen Auflösung. Bei Erkalten auf 50° C Zusatz von 10 Hühnereiern, deren Eiweiß mit Eigelb geschlagen ist. Nach Kochen von 5—10 Minuten Filtrieren durch ein leinenes Colatorium, Zusatz von 1 Proz. Glycerin, Fällung in 5 Literkolben und Sterilisierung.

Zum Gebrauche verflüssigt man einen Kolben im Dampfapparate und filtriert die heiße Flüssigkeit durch einen großen Wattebausch. Das klare Filtrat trübt sich auch beim Sterilisieren nicht.

E. Roth (Halle a. S.).



## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Freeman, M. G. F.,** Pasteurisation der Milch bei niederer Temperatur ( $68^{\circ}$  C). (Archives of Pediatrics. — Milchzeitung. 1896. No. 49.)

Nach den Versuchen des Verf.'s genügt eine Pasteurisation bei  $68^{\circ}$  C zur Abtötung der gewöhnlich in der Milch anwesenden Bakterien. Eine Veränderung im Geschmacke der Milch war unter  $70^{\circ}$  nicht zu konstatieren, dagegen war dieselbe bei  $75^{\circ}$  C deutlich; während aber eine solche 20 Minuten dauernde Erwärmung vollkommen genügte, um die Milch steril zu machen. — Statt eines Thermometers bediente sich Verf. zur Kontrolle der Temperatur eines Apparates, der darauf beruhte, daß zwei Flüssigkeiten von verschiedener Temperatur bei ihrer Berührung ihre Temperaturunterschiede ausgleichen. Pathogene Keime werden darin durch eine 15 Minuten währende Erhitzung auf  $65^{\circ}$  C getötet. Der Fr.'sche Apparat ist so konstruiert, daß die Milch während  $1\frac{1}{2}$  Stunden bei mehr als  $65^{\circ}$  C und weniger als  $70^{\circ}$  C erhalten werden kann. Derselbe besteht aus einem Kochtopfe mit Deckel und einem Behälter für die Milchflaschen. Ersterer ist ringsherum mit einer Nute versehen, die als Marke für die Füllung mit Wasser gilt. Im Innern des Topfes sind Stützen für den Behälter angebracht, der aus mehreren hohlen Zinkcylindern besteht, die miteinander verbunden sind; der Behälter kann höher oder tiefer in den Kochtopf eingesetzt werden.

Der Verf. giebt folgende Gebrauchsanweisung: Der Apparat wird bis zur Marke mit Wasser gefüllt und dieses bis zum Kochen erhitzt. Der Topf wird dann auf einen schlechten Wärmeleiter gesetzt. Der Behälter, der die mit Baumwollepfropfen versehenen Milchfläschchen enthält und den Wasser umgiebt, wird nun so in den Kochtopf gesetzt, daß der obere Drahring auf den Stützen ruht. Alsdann wird der Topf bedeckt und bleibt 45 Minuten stehen. Auf diese Weise reicht nun der untere Teil des Behälters in das erhitzte Wasser; der Vorteil ist dabei, daß die Milch oben und unten einen gleichmäßigen Wärmegrad annimmt, was bei anderen Sterilisationsapparaten, wie Fr. sagt, nicht zutrifft. Die Milch erreicht so in der ersten Viertelstunde eine Temperatur von  $65^{\circ}$  C, und verändert sich während 30 Minuten nicht, höchstens um  $1^{\circ}$  C in der letzten Viertelstunde. Nach Verlauf von 45 Minuten wird der Deckel entfernt, der Behälter etwas gedreht und so gehoben, daß der unterbrochene Drahring auf die Stützen zu liegen kommt. Das Kühlwasser läßt man nun in den Topf laufen mit der Vorsicht, daß kein Wasser in die Cylindern kommt. Nach 15 Minuten hat die Milch den Kältegrad des Wassers erreicht, die Flaschen werden dann verschlossen und im Kühlraume bis zum Verbräuche aufbewahrt. Wasser und Milch müssen in der für den Apparat angegebenen Menge genau abgemessen werden. Die Temperatur der Milch kann zwischen  $10$  und  $20^{\circ}$  C sein, stets wird die oben erwähnte Temperatur erhalten, der Temperaturunterschied

beträgt höchstens 2° C. Rasche Kühlung darf nicht versäumt werden und die pasteurisierte Milch soll nach dem Verf. innerhalb 24 Stunden verbraucht sein.

Baier (Berlin).

**Babcock, S. M. u. Russell, H. L.,** Die Wiederherstellung der Konsistenz in pasteurisierter Milch. (Bulletin. No. 54 der landw. Versuchsstationen von Wisconsin; n. Milchzeitung Nr. 46 p. 731.)

Um die Konsistenz verschiedener Milchsorten zu prüfen, haben die Verf. einen Zähigkeitsmesser (Viscosimeter) konstruiert, derselbe besteht aus einer einfachen 12×15 Zoll großen Glasplatte, einer Glaspipette und einem Glasstabe mit rundem Ende. Von der zu prüfenden Milch läßt man einen Tropfen dicht am Rande der Glasplatte mittels der Pipette bezw. Stabe auffallen und neigt alsdann die Platte allmählich nach der entgegengesetzten Seite. Um brauchbare Resultate zu erhalten, läßt man mehrere Tropfen derselben Milch auf die Platte fallen und nimmt die durchschnittliche Länge der Milchfäden als Vergleichsmaßstab. Um die Konsistenz in pasteurisierter Milch herzustellen benutzen die Verf. eine Zuckerleimlösung (Viskogen genannt) wovon sie einen Teil auf 90 Teile Rahm verwandten.

Dieser Zusatz von Viskogen soll ferner dazu dienen, dem durch den Separator gewonnenen Rahm mehr Körper zu geben, um die Viskosität des für das Schlagen bestimmten Rahmes zu erhöhen und um der kondensierten Milch mehr Gehalt zu geben, wenn die Methode der Zubereitung nicht mit der Anwendung des Viskogens im Widerspruch steht.

Baier (Berlin).

**Bokorny,** Vergleichende Studien über die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien. (Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere. Bd. LXIV. p. 262.)

Verf. hat sich der Mühe unterzogen, umfassende Vergleiche über die giftige Beschaffenheit chemischer Substanzen bei ein und denselben Objekten anzustellen, die Konzentrationen festzustellen, bei welchen die Giftwirkung eintritt und aufhört, sowie die Art der Einwirkung auf das Plasma und die lebenden Organe der Zelle zu verfolgen. Als Versuchsobjekte dienten ihm von den niederen Tieren Infusorien bestimmter Art und Algen, wie *Spirogyra*, *Cladophora*, *Vaucheria*, *Conferva* etc. ein und derselben Kultur.

Die chemischen Substanzen wurden so gewählt, daß die Beziehungen der Konstitution zur Giftigkeit hervortreten mußten. Von Chemikalien wurden zu den Versuchen herangezogen Basen und Säuren anorganischer Natur und zwar: Ammoniak, kohlen-saures Ammoniak, Kaliumhydroxyd, Natron, Kalk, Diamid, Hydroxylamin, Diäthylamin, freie Mineralsäuren, wie Schwefelsäure, Salzsäure, freie Fluorwasserstoffsäure, freie salpetrige Säure, Wolframsäure, ätherische Säure, schweflige Säure, selenige Säure, arsenige Säure. Von Salzen wurden benutzt Fluoride, Kupfervitriollösung, Sublimat, salpetersaures Silber, Zinkvitriol, Cadmiumsulfat, Goldchloridnatron, Bleiacetat, Aluminiumsulfat, Eisenvitriol, Cer und Toxium.



Es folgen die Oxydationsgifte mit Chlor, Brom, Jod, Kaliumpermanganat, chloresäures Kalium, jodsaures und überjodsaures Kalium, Wasserstoffsuperoxyd, neutrales chromsaures Natron, Kaliumdichromat. Größere Versuchsreihen liegen auch mit Phosphor vor.

Von organischen Säuren sind berücksichtigt Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Buttersäure, Bernsteinsäure, Asparaginsäure, Citronensäure, Weinsäure, Apfelsäure, Oxalsäure, Benzoësäure, die 3 Carbonsäuren des Phenols u. a. m.

Es folgen Versuche mit Kohlenwasserstoff, Benzol, Toluol, Methan, ferner Alkohole, wie Aethylalkohol, Methylalkohol, Propyl-, Amyl-, Bersylalkohol, ferner Phenol, Hydrochinon, Brenzkatechin, Pyrogallol, Resorcin. Aus der Gruppe der Halogenderivate erwähnen wir Bromtoluol, Amylchlorid, Dichloressigsäure, Dibrompropionsäure. Von Aldehyden sind studiert Aethylaldehyd, Paraldehyd, Benzaldehyd, von Nitroderivaten Nitroglycerin, Pikrinsäure, Nitrobenzol, Nitrotoluol; von Sulfoderivaten phenolsulfonsaures Natron.

Von Cyanverbindungen seien genannt Cyankalium, Ferrocyanalkalium, Schwefelcyankalium, Cyanessigsäure, Acetonitril, Benzonnitrillösung, Dicyan. Von Amidverbindungen wollen wir erwähnen Anilin, Amidbenzoësäure, Diamid, Phenylhydracin, Harnstoff, Sulfoharnstoff, Hydroxylamin, Urethan, Glykokoll, Azoimid. Die 13. Gruppe berücksichtigt die Alkaloide, und zwar Curare, Digitalin, Muscarin, Strychninnitrat, Nikotin, Morphinum, Chinin, Chinolin, Piperidin, Antipyrin, Caffeïn, Tannin. Von giftigen Eiweißstoffen sind geprüft Ricin, Abrin.

Alle diese Lösungen sind in den verschiedensten Verdünnungen in ihrem Verhalten zu den Kleinlebewesen, wie Bakterien, Protozoen etc. geprüft. Es würde hier viel zu weit führen, auch nur abrißweise im einzelnen die Wirkung dieser Gifte hier zu erörtern. Es konnte nur unsere Aufgabe sein, auf die Arbeit als solche hinzuweisen.

O. Voges (Berlin).

### Corrigendum.

Seite 150 in No. 6 dies. Centralbl. Zeile 7 von unten ist zu lesen „der wirtelig verzweigte Conidienträger“ statt wirbelig.

Seite 153 trifft der Schlußabsatz der Tafelerklärung insofern nicht mehr ganz zu (die Tafelkorrektur kam erst nach vollendeter Drucklegung des Hefes zum Versand), als von dem Zeichner die primitive Signierung der Kulturgefäße durch eine ansprechendere ersetzt ist (Druckschrift). — Die Kulturröhren (Fig. 13—14) hatten — wie sich auch aus der Beschaffenheit der Vegetationen ergibt — im Brütschranke eine geneigte Lage.

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat. Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe.  
Hrsg. von L. Klein u. W. Migula. Bd. I. Heft 4. p. 377—540. gr. 8°. Karlsruhe (Otto Nemnich) 1897. 3,40 M.
- Baumgarten's Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoen. Namen- u. Sach-Register zu Jahrg. I—X. 1885—1894. Bearb. von B. Honsell und E. Ziemke. gr. 8°. 280 p. Braunschweig (Harald Bruhn) 1897. 10 M.
- Doyen, E. et Roussel, G., Atlas de microbiologie. 8°. Paris (Rueff & Cie.) 1897. 30 fr.
- Fearmain, T. H. and Moor, C. G., Aids to the study of bacteriology. (Student's Aids Series.) 12°. 160 p. London (Baillière, Tindall and Cox) 1897. 3 sh. 6 d.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Bordas, T. et Joulin, Sur le développement des microorganismes sur le lacto-sérum artificiel. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 1. p. 13—14.)
- Nelson, E. M., A simplification of the method of using Professor Abbe's apertometer. (Journ. of the R. microsc. soc. 1896. Dec. p. 592—594.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

- Arachequesne, M., Sur les difficultés de fermentation des jus de betteraves. (Bulet. de l'assoc. d. chimist. de sucr. et de distill.) (Journ. de la distillerie franç. 1896. No. 654, 655. p. 599—601, 609—611.)
- Ashmead, W. H., Descriptions of new parasitic hymenoptera. (Transact. of the Amer. entomol. soc. 1896. p. 174—234.)
- Bokorny, Th., Verhalten verschiedener Buttersäuren und Baldriansäuren gegen Pilze. (Milch-Ztg. 1897. No. 2. p. 18—19.)
- Brauer, F., Beiträge zur Kenntnis außereuropäischer Ostriden und parasitischer Muscarien. (Aus: Denkschr. d. k. Akad. d. Wiss.) gr. 4°. 26 p. mit 1 Taf. Wien (in Komm. Carl Gerold's Sohn) 1897. 2,60 M.
- Davis, J. J., A new smut. (Botan. Gazette. 1896. p. 413—414.)
- Fermi, C., Studio biologico sui blastomiceti. (Policlinico. 1896. 1. dicemb.)
- Focker, H., Recherches anatomiques sur les galls. 8°. Paris (Soc. d'édit. scientif.) 1897. 15 fr.
- Laborde, J., Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle, l'Enurotiopsis Gayoni. (Annal. de l'Institut Pasteur. 1897. No. 1. p. 1—43.)
- Michaelsen, W., Oligochaeten. (Aus: Kükenthal, Ergebnisse e. zool. Forschungsreise in d. Molukken; Abh. d. Senckenb. naturforsch. Ges.) gr. 4°. 51 p. Frankfurt a. M. (in Komm. Diesterweg) 1897. 3 M.
- Perraud, J., Sur un acarien parasite de la vigne, Giardius vitis (J. Perraud), genre nouveau. (Revue de viticulture. 1897. No. 163. p. 118—119.)
- Pintner, Th., Studien über Tetrarhynchen, nebst Beobachtungen an anderen Bandwürmern. II. Mittell. Ueber eine Tetrarhynchenlarve aus dem Magen von Heptanchus, nebst Bemerkungen über das Exkretionssystem verschiedener Cestoden. (Aus: Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss.) gr. 8°. 31 p. m. 4 Taf. Wien (in Komm. Carl Gerold's Sohn) 1897. 1,80 M.
- Ravas, L. et Gouirand, G., Action de quelques substances sur la germination des spores du black-rot. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 24. p. 1086—1088.)
- Renault, B., Recherches sur les bactériacées fossiles. (Annal. d. scienc. natur. Botanique. T. II. 1896. No. 4/6. p. 275—349.)

- Römer, F.**, Beitrag zur Systematik der Gordiiden. (Aus: Kükenthal, Ergebnisse e. zool. Forschungsreise in d. Molukken; Abh. d. Senckenb. naturforsch. Ges.) gr. 4°. 47 p. m. 1 Taf. Frankfurt a. M. (in Komm. Diesterweg) 1897. 3 M.
- Sappin-Trouffy**, Recherches histologiques sur la famille des urédinées. Thèse. 8°. 190 p. Poitiers (Impr. Oudin et fils) 1897.
- Simond, P. L.**, Note sur le dimorphisme évolutif de la coccidie appelée Karyophagus Salamandrae Steinhaus. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 53. p. 1061—1063.)
- Takamine, J.**, Verfahren zur Herstellung eines diastatischen Enzyms besw. einer Enzymmischung. (Patentschrift No. 90463.) (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. No. 4. p. 27.)
- Underwood, L. M.**, Notes on the pine-inhabiting species of peridermium. (Bull. Torrey botan. cl. 1896. p. 400.)
- Wegelin, H.**, Beitrag zur Pyrenomycetenflora der Schweiz. (Mitteil. d. Thurgauer naturforsch. Ges. 1896. Heft 12.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft und Wasser.

- Gärtner, A.**, Die Hygiene des Trinkwassers. Vortrag. gr. 8°. 32 p. m. 11 Abbildgn. Berlin (Karger) 1897. 0,75 M.
- Migula, W.**, Beiträge zur bakteriologischen Wasseruntersuchung. I. (Aus: Arbeiten a. d. bakteriolog. Inst. d. tech. Hochschule zu Karlsruhe.) gr. 8°. 8 p. Karlsruhe (Otto Nemnich) 1897. 0,30 M.

## Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

### Fleisch.

- Dieckerhoff**, Gutachten über die Genußtauglichkeit des Fleisches rotlaufkranker Schweine. (Bierl. tierärztl. Wchschr. 1897. No. 3. p. 25—27.)

### Milch, Molkerei.

- Bendixen, N.**, Mikroorganismer i mælkeribrugt. 8°. Kopenhagen (H. Hagerup) 1897. 1 kr. 50 ø.

### Wein, Weinbereitung.

- Gautier, A.**, Les vins cassés. (Rev. de viticulture. 1897. No. 163. p. 115—118.)

## Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Boutroux, L.**, Le pain et la panification. Chimie et technologie de la boulangerie et de la meunerie. 8°. 358 p. avec fig. Paris (J. B. Baillière et fils) 1897. 5 fr.

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

### Harmlose Bakterien und Parasiten.

- Janse, J. M.**, Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. (Annal. du jardin botan. de Buitenzorg. Vol. XIV. 1896. partie 1. p. 53—201.)

### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Atti della commissione consultiva per la fillossera. Sessione del giugno 1895. (Annali di agricoltura. 1895.) 8°. 115 p. Roma 1896.
- Boas, J. E. V.**, Dansk forstzoologi. Hæft 4. 8°. 32 p. Kjøbenhavn (Nordiske Forlag) 1897. 65 ø.
- Bonzanini, Fr.**, La fillossera: istruzioni pratiche. Ed. II. 8°. 20 p. Mantova (G. Mondovi) 1897. 0,50 fr.
- Briem, H.**, Die gebräuchlichsten Mittel zur Bekämpfung der pflanzlichen und tierischen Parasiten der Zuckerrübe. (Bl. f. Zuckerrübenbau. 1897. No. 2. p. 17—22.)
- Craig, J.**, The strawberry leaf roller. (Canadian hort. 1896. No. 7. p. 240—241.)

- Cuboni, G.**, Notizie sulle malattie delle piante coltivate. Relazione (Gennaio-giugno 1896). I. Malattie della vite. II. Malattie del gelso. III. Malattie del frumento. IV. Il male dello sclerozio nella fava. V. Batteriosi del Sedano. (Bollett. di notizie agrar. 1896. No. 40. p. 487—600.)
- Cunningham, D. D. and Frain, D.**, Indian wheat rusts. (Rec. of the bot. survey of India. Vol. I. 1896. No. 7. p. 99—124.)
- Elenco dei comuni dichiarati infetti dalla „Diaspis pentagona“.** (Bollett. di notizie agrar. 1896. No. 12. p. 280.)
- Elenco generale dei comuni accertati infetti da fillossera o sospetti di esserlo, a tutto il 31 dicembre 1895, dai cui territori è vietato di esportare vegetali, in conformità dei decreti ministeriali in data 6 luglio 1892 e 30 novembre 1895.** (Bollett. di notizie agrar. 1896. No. 12. p. 274—279.)
- Fuller, C.**, Forest insects — some gallmaking coccids. (Agl. Gaz. N. S. Wales. Vol. VII. 1896. No. 4. p. 209—218.)
- Garman, H.**, Experiments for checking apple rot and codling moth in 1895. (Kentucky Sta. Bullet. 1896. p. 113—129.)
- Gosio, B. e Ferrati, E.**, Sull' azione fisiologica del veleni del mais invaso da alcuni ifomiceti. Memoria 3. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1896. No. 24. p. 961—981.)
- Gouirand, G. et Bergeron, G.**, Observations sur le traitement de l'antracnose. (Rev. de viticult. 1897. No. 159. p. 5—10.)
- Hernández y Casarro**, Cecidomyia destructor Say (actualmente causa en gran parte de Castilla graves da nosen los cereales). (Anal. de la socied. Española de historia natural. Ser. II. T. V. 1896. Actas. p. 22.)
- Howard, L. O.**, The larger corn stalk-borer. (Diatraea saccharalis Fab.) (U. St. Department of Agricult., division of entomol. Circul. 1896. No. 16.) 8°. 3 p.
- Insect injuries to the seed and root of Indian corn.** (University of Illinois, Agricult. experim. station Urbana Bull. No. 44.) 8°. Urbana 1896.
- Kellerman, W. A.**, New experiments with fungicides for smut of wheat and oats. (Proceed. of the 17. meet. of the soc. for the promot. of agricult. science, held at Buffalo N. Y. 1896. p. 60—70.)
- Malaquin, A.**, Parasitism et évolution de deux monstrillides (Thaumaleus filigranarum n. sp., Haemocera n. g., Danae Clapd.) à l'intérieur du système vasculaire des Filigranes et des Salmacyns. Ethologie. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 26. p. 1316—1318.)
- Mayet, V.**, Another enemy of the vine — the coccus of Chile. (Agl. Journ. Cape Colony. 1896. No. 7. p. 158—161.)
- Nijpels, P.**, Les maladies cryptogamiques des plantes cultivées. Les champignons nuisibles aux plantes cultivées et les moyens de les combattre. 8°. 96 p. Avec nombreuses gravures et reprod. de photogr. Liège (Impr. Vaillant-Carmanne) 1896.
- Ormerod, E. A.**, Eel worm disease in onions. (Agl. Gaz. 1896. No. 1175. p. 9.)
- Peglion, V.**, Una nuova malattia della Canapa. Batteriosi dello stelo. (Malpighia. 1896. p. 556—560.)
- Perraud, J.**, Sur un acarien parasite de la vigne (Giardius vitis, Perraud, genre nouveau). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 35. p. 1123—1124.)
- Price, E. H.**, Saving corn from the bollworm. (Amer. garden. 1896. No. 83. p. 468.)
- Rose, E.**, Un nouveau microcoque de la pomme de terre et les parasites de ses grains de féculé. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIII. 1896. No. 26. p. 1323—1324.)
- Stocklass**, Zuckerrübenkrankheiten in Böhmen. (Böhm. Ztschr. f. Zuckerindustrie. 1897. p. 1.)
- Tryon, H.**, Proceedings in coping with the grub pest. (Sugar Journ. and trop. cult. 1896. No. 4. p. 91—93.)
- Washburn, F. L.**, Fruit pests. (Oregon stat. bullet. 1896. p. 27.)
- Williams, Th. A.**, Experiments with potato scab. (South Dakota agric. coll. and exper. stat. Brookings. 1896. No. 48.)
- Zehntner, J.**, Life history and treatment of the sugar cane borer. (Proef. stat. East Java. 1896. No. 23. N. S. p. 21.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Blum, J.**, Die Erfahrungen mit der Formolkonservierung. (Ber. d. Senckenb. naturf. Ges. 1896. p. 285.)

## Inhalt.

## Originalmitteilungen.

- Cann, H. W.**, Butter Aroma. (Orig.), p. 177.
- Ewell, Ervin E.**, A form of apparatus and method of manipulation for the preparation of roll cultures of anaërobic organisms. (Orig.), p. 188.
- Hartleb, E. u. Stutzer, A.**, Das Vorkommen von *Bacillus pseudanthracis* im Fleischfuttermehl. (Orig.) [Schluß], p. 179.
- Stutzer, A. u. Hartleb, E.**, Der Salpeterpilz. (Orig.), p. 161.
- Tischutkin, N.**, Ueber Agar-Agarkulturen einiger Algen und Amöben. (Orig.), p. 183.

## Referate.

- Aderhold, Rud.**, Die Fusicladien unserer Obstbäume. I. Teil, p. 198.
- Bächler, C.**, Beiträge zur Erforschung des Gärungsverlaufs in der Emmenthaler Käsefabrikation, p. 194.
- Bial, Manfred**, Ueber den Mechanismus der Gasegärungen im Magensaft. Zugleich ein Beitrag zur Biologie des Hefepilzes, p. 191.
- Catiano, L.**, Beiträge zur Morphologie der Bakterien. Ueber zwei fadenbildende Bacillen, p. 191.
- Escombe, F.**, Beitrag zur Chemie der Membranen der Flechten und Pilze, p. 195.
- Hollrung, M.**, Vorsicht gegenüber dem Auftreten der Fritfliege im Getreide, p. 197.
- Klöcker, Alb. u. Schiönning, H.**, Que savons-nous de l'origine des Saccharomyces?, p. 193.

- Köbner, Heinrich**, Ueber die Veränderungen des Rohrzuckers im Magen-Darmkanal, p. 193.
- Magnus, P.**, Parallelformen unseres *Uromyces scutellatus* Lév. in weit entfernten Ländern, p. 196.
- Sajó, C.**, Der Spargelrost, p. 197.
- v. Scanzoni, Friedrich**, Ueber die Resorption des Traubenzuckers im Dünndarm und deren Beeinflussung durch Arzneimittel, p. 192.
- Solomin, P.**, Ueber die beim Erhitzen der Milch ausfallenden Eiweißmengen, p. 195.
- Telch, Beitrag zur Kenntnis thermophiler Bakterien**, p. 190.

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Betting, C. F.**, Ein neuer Objekthalter für Mikrotome, p. 201.
- Kluge**, Eine praktische Methode zur Herstellung von Agar für Kulturen, p. 201.

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Babcock, S. M. u. Russell, H. L.**, Die Wiederherstellung der Konsistenz in pasteurisierter Milch, p. 203.
- Bokorny**, Vergleichende Studien über die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien, p. 203.
- Freeman, M. G. F.**, Pasteurisation der Milch bei niedriger Temperatur (63° C), p. 202.

Corrigendum, p. 204.

Neue Litteratur, p. 205.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie. Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg  
herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel**

und

**Prof. Dr. J. H. Vogel,**

Vorsteher der Versuchsstation der Deutschen Landw. Gesellschaft in Berlin

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 22. Mai 1897.**

**No. 9/10.**

---

Jährlich erscheinen 36 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

---

## **Original - Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Zur Bakteriologie und Chemie der Härlingslake I.**

[Aus dem Techn.-chem. Laboratorium der Technischen Hochschule zu Hannover.]

Von

**Dr. C. Wehmer.**

Mit 1 Tafel.

#### **1. Die Salzhefe.**

Die den eingepökelten Härling durchtränkende und in den zum Versand kommenden Fässern begleitende eigenartige salzreiche Flüssig-

keit ist keineswegs das, was man etwa steril nennen könnte, sondern im Gegenteil außerordentlich reich an lebensfähigen Keimen. In Hinblick auf die Resistenz mancher sonst ziemlich empfindlicher Bakterien gegen starke Salzlösungen ist das nun zwar auf der einen Seite nicht gerade befremdend, da fast jederzeit reichlich Gelegenheit zum Hineingelangen von Keimen in die Lake gegeben ist. Beachtenswert wird diese Thatsache aber dadurch, daß wir es im allgemeinen nicht mit einem bunten Gemenge zahlreicher beliebiger Formen zu thun haben, sondern in der Hauptsache mit einigen wenigen in großer Individuenzahl auftretenden Arten, die — wie experimentell gezeigt werden kann — selbst noch bei einem relativ hohen Salzgehalt des Mediums entwicklungsfähig sind. Es sind das somit physiologisch interessante Formen; andererseits wird damit natürlich auch die praktisch bedeutsame Frage nahegelegt, inwieweit eine Lebensthätigkeit dieser noch in der Lake selbst stattfindet.

Die im Verlaufe dieses Frühjahrs (Februar bis April) von mir mit einer zu verschiedenen Zeiten von demselben Lieferanten bezogene Lake (Emdener Heringe) angestellten Ermittlungen ergaben nun u. a., daß die Hauptvegetation derselben zunächst von einem Sproßpilz dargestellt wurde, welcher numerisch alles andere stark überwiegt und ganz hervorragend widerstandsfähig gegen einen die meisten übrigen Organismen hemmenden höheren Salzgehalt des Kulturmediums ist. Unter vorläufigem Verzicht auf eine besonders systematische Benennung will ich ihn einstweilen einfach als „Salzhefe“ beschreiben; ob er weiterhin passender bei *Saccharomyces*, *Torula* oder dergl. unterzubringen, bleibt abzuwarten, wie denn ja auch, bevor wir das Verhalten ähnlicher Formen unter den gleichen Umständen kennen, über die etwaige Neuheit der Species nichts Sicheres auszusagen ist. Thatsachen verschiedener Art, so z. B. auch, daß eine innere Sporenbildung bislang noch nicht beobachtet ist, rechtfertigen ein vorläufiges Absehen von Erörterungen über die systematische Stellung hinlänglich. Ebenso lassen auch die bisherigen Gärversuche besondere Schlüsse noch nicht zu. Das, was über den interessanten Pilz bislang festgestellt wurde, genügt im übrigen, ihm einige Aufmerksamkeit zu schenken.

### Isolierung der Hefe.

Die Hefe ist aus der Lake nach dem üblichen Verfahren außerordentlich leicht in Reinkultur zu gewinnen, wobei man der (nicht alkalisch gemachten) Gelatine zweckmäßig einige Prozent Kochsalz zusetzt. Die Platten oder Petrischalen bedecken sich alsbald dicht mit grauweißen, porzellanartigen Pünktchen, die in 5—10 Tagen nach der Aussaat zu ungefähr 0,5 mm im Durchmesser haltenden Kolonien heranwachsen und ohne Mühe abgeimpft werden können. Die innerhalb der Gelatineschicht zur Entwicklung kommenden Kolonien sind durchweg rundlich (kugelig bis abgeplattet) mit ziemlich scharfem Rande, während die oberflächlich liegenden alsbald halbkugelig und dann zäpfchenartig hoch emporwachsen. Ein Kochsalzzusatz von 3 Proz. läßt neben der Hefe noch manches andere aufkommen, geht man aber darüber hinaus und gibt der 10-proz. Gelatine eine Bei-

gabe bis 10 Proz. Kochsalz, so verringert sich die Zahl der auf den Platten zur Entwicklung kommenden Organismenarten schon außerordentlich, und neben unserer Hefe kam in den von mir untersuchten Laken vorwiegend nur noch ein Mycelpilz auf, der kein anderer, als das echte *Penicillium glaucum* ist<sup>1)</sup>. Es ergibt sich hier natürlich die auch praktisch interessante Frage, ob Laken anderer Provenienz die gleichen Organismen enthalten oder ob diese von besonderen Umständen (Fangort, Behandlungsweise, Salzgehalt und sonstige Zusammensetzung) mit abhängig sind; immerhin liegt ja die Vermutung nahe, daß diese Organismen durch ihre Lebensäußerungen (Stoffbildung und Stoffverbrauch) auf die endgültige Zusammensetzung der Häringslake — und so bis zu einem gewissen Grade auch auf Geruch und Geschmack derselben wie des Fisches selbst — nicht ganz ohne Einfluß gewesen sind, und man könnte als analogen Fall auf die Stoffumbildung hinweisen, welche in der salzreichen Masse der japanischen Soya und Miso sowie vieler Käsearten durch niedrigere Organismen bewirkt werden<sup>2)</sup>. Eine Erörterung dieser Frage bleibt jedoch einer weiteren Mitteilung vorbehalten; ich beschränke mich hier zunächst allein auf die unsere Hefe betreffenden Daten.

### Morphologisches und Kulturelles.

Gestaltlich bietet die Hefe ebensowenig Auffälliges, wie die Mehrzahl der hierher gehörigen Organismen. Die Zellen sind, auf Gelatine erwachsen, bald kugelig, bald oval oder langgestreckt (Fig. 1), in Würze dagegen fast ausschließlich streng kugelig (Fig. 5—7) mit zarter farbloser Membran und ebensolchem homogenen oder seltener etwas körnigen Plasma, das je nach Alter oder Verhältnissen eine kleinere oder größere Vakuole mit einem hellen Tropfen (Fett?) umschließt. Der Salzgehalt des Substrats ist jedenfalls nicht auf die Zellgestalt von Einfluß und nur wenig auf die Größe, indem das Bild der Zellen in stärkeren Salzlösungen (so z. B. 15-proz.) kein wesentlich anderes ist (cf. Abb.).

Die Größe ist nur eine mittlere bis geringe; ovale Zellen wurden bis  $7\ \mu$  lang, kugelige mit einem Durchmesser von annähernd  $3\text{--}4\ \mu$  (auch  $5\ \mu$ ) gemessen, so daß die Hauptdimensionen mit  $4\text{--}7\ \mu$  annähernd richtig wiedergegeben sind. Die jungen Sprossungen trennen sich gewöhnlich alsbald von der Mutterzelle, wenngleich man gelegentlich auch kleineren Verbänden (von  $3\text{--}4$  Stück) begegnet. Das ist aber alles nichts Auffälliges. Beachtenswerter erscheint die Thatsache, daß unter Umständen (auf Gelatine) Bilder auftreten, welche nicht mehr den Charakter der Sprossung zeigen, sondern

1) Seltener treten zwei andere Arten hinzu, die braune (olivfarbene) und weiße Rasen bilden. Auf diese wie auch die Bakterien soll hier nicht eingegangen werden.

2) Insbesondere sei hier auch auf die Organismen hingewiesen, welche beim Einmachen der Vietsbohnen mitwirken, bislang aber meines Wissens nicht erwähnt sind. Die geschnitzten, mit viel Salz vermengten Bohnen werden bekanntlich in Fässer gepreßt einer Art Gärung überlassen, wobei die sich ansammelnde salzreiche Flüssigkeit von Organismen (Bakterien, Hefe, Infusorien) wimmelt. Die Aufgabe der Gärung scheint hier eine Vernichtung der leichter zersetzlichen Stoffe zu sein; uns interessiert hier nur, daß sie gleichfalls in einer sehr salzigen Flüssigkeit (Wasserszusatz findet nicht statt!) verläuft, sowie daß Sproßpilze dabei nicht fehlen.



sich denen bei Keimungserscheinungen nähern; hier „platzt“ somit gleichsam die Zelle auf der einen Seite auf und wächst zu einem zweiten Individuum aus. Ich habe deshalb auch von vornherein die Möglichkeit, daß hier nur die Sproßform eines Mycelpilzes vorliegt, ins Auge gefaßt, bin bislang in den bezüglichlichen Ermittlungsversuchen aber nicht glücklich gewesen und muß diesen Punkt somit zunächst noch offen lassen. In Würze verschiedener Konzentration hat man jedenfalls immer nur die kugelige Hefenform. Da ich den Pilz fortlaufend in Kultur halte, wird sich Gelegenheit bieten, darauf zurückzukommen.

Besonders organisierte Inhaltsbestandteile fehlen durchweg oder treten doch nicht hervor, somit auch der angeblich, aber wohl kaum faktisch jeder Pilzzelle zukommende Kern, wenigstens möchte ich nicht jedes durch Farbstoffe innerhalb des Plasmas erzielte Niederschlags- oder Kunstprodukt so bezeichnen. Die innere Organisation der pilzlichen Organismen und überhaupt der einzelligen Gewächse wird wohl ebensowenig wie beispielsweise die der tierischen Organismen nach dem gleichen Schema „gearbeitet“ sein.

In oder auf nicht alkalisierter Gelatine (10 Proz.) wächst die Hefe in den bereits erwähnten porzellanfarbigen rundlichen Kolonien ohne jede verflüssigende Wirkung, die nur durch stärkere Systeme oder in davon gefertigten Präparaten als nicht aus Bakterien bestehend erkannt werden. In flüssigen Substraten bildet sie bald zunächst eine Trübe, gefolgt von einem Bodensatz oder einer zarten matten bez. weißlichen Haut, bald entsteht sogleich eine Haut, deren ältere Bestandteile allmählich zu Boden fallen, bald endlich entwickeln sich nur Hefeflecke am Boden. In dieser Beziehung kommen je nach den besonderen Kulturbedingungen u. a. mannigfache Ungleichmäßigkeiten vor; es beziehen sich diese Angaben insbesondere auf Würze verschiedener Konzentration ( $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$ ) ohne und mit Kochsalzgehalt wechselnder Größe (3—15 Proz.). Decke, Bodensatz und Trübe können sowohl erklärt hefig wie mehr bakterienartig sein, so daß das Aussehen keineswegs immer sicher auf das Vorliegen einer Hefe hindeutet.

Naturgemäß steht auch die Entwicklungsschnelligkeit erheblich unter Einfluß der äußeren Umstände (Temperatur, Konzentration der Nährlösung, Salzgehalt u. a.), sie ist aber durchweg eine beträchtliche, solange jene wenigstens nicht den Extremen zuneigen. Konzentrierte Würze, Bruttemperatur, stärkere Salzkonzentration (15 Proz.) wirken nach den bisherigen Feststellungen jedenfalls verlangsamen, während Würze von ungefähr 7° mit bis 3 Proz. Salz eine ungemein lebhafte Entwicklung des eingeführten Impfmateri als zur Folge hat; die zunächst sich stark trübende Nährlösung beginnt sich dann nach einigen Tagen über dem Bodensatz zu klären, so daß ganz das Bild einer vergorenen Flüssigkeit resultiert; während der Zeit der lebhaften Entwicklung fehlt es auch nicht an einzelnen Gasblasen, doch bleibt noch festzustellen, ob es auch zu einer nennenswerten Alkoholbildung kommt. Jedenfalls werden hiernach die Kohlenhydrate und sonstigen Bestandteile der Bierwürze leicht assimiliert.

### Die Zahl der in der Lake vorhandenen Hefezellen.

Auf den besonderen Keimreichtum der untersuchten, im übrigen natürlich ganz normalen Lakeproben wurde bereits oben hingewiesen, es erübrigt also noch eine wenigstens annähernde Zahlbestimmung. Das Resultat wird hier natürlich von der Art der Probenentnahme merklich beeinflusst, und ich bemerke deshalb, daß für die bezüglichen Bestimmungen von der durch mehrwöchentliches Stehen ziemlich abgeklärten Flüssigkeit genommen wurde (also ausschließlich des Bodensatzes).

Da bei Verwendung mehrerer Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit zum Plattenguß (10 Proz. Gelatine mit 3 Proz. Salz) auch von einem annähernden Zählen der Keimzahl nicht mehr die Rede sein konnte, wurde zu weitergehender Verdünnung geschritten. Hierzu wurde 1 ccm Lake mit 100 ccm dest. Wasser vermischt und 5 ccm hiervon 25 ccm verflüssigter Gelatine zugesetzt, von der dann auf jede Platte bez. Schale 5 ccm ausgegossen wurden. Auf jede dieser entfällt also ungefähr der sechste Teil von  $\frac{1}{120}$  ccm Lake =  $\frac{1}{720}$  ccm und es erwuchsen hieraus in 3 einzelnen Versuchen 80, 100 und 106 Hefekolonien (cf. Zusammenstellung am Schluß). Auf den ccm kämen danach für diese Fälle ganz annähernd 57 600—78 320 Hefezellen, eine Zahl, die wenigstens ein annäherndes Bild von dem Reichtum der Lake an Hefe giebt, im übrigen wohl bald niedriger, bald aber auch höher ausfallen mag.

Wenn wir übrigens unter zugrundelegung des Zelldurchmessers von  $5\ \mu$  eine annähernde Schätzung der den Raum eines cbmm einnehmenden Hefezellen versuchen, so könnten das vielleicht 8 Mill. sein; jene Zahl verliert damit allerdings von ihrer vielleicht imponierenden Größe, denn es zeigt sich dann, daß selbst 60 000 jener Zellen kaum den Raum von  $\frac{1}{130}$  cbmm ausfüllen würden, 1 ccm Lake also nur zu ungefähr  $\frac{1}{130\,000}$  Teil seines Volums damit erfüllt wird. Wir wollen aber Zahlen nicht überschätzen und für uns ist die oben eruierte Thatsache wesentlich genug, um zu anderweitigen Erwägungen aufzufordern. Uebrigens finden wir nach dem eingeschlagenen Verfahren immer doch nur die zur Zeit noch gerade entwickelungsfähigen Keime.

### Der Kochsalzgehalt der Lake.

Laken verschiedener Art stimmen hinsichtlich des Salzgehaltes offenbar ebensowenig ganz genau überein, wie etwa die gleiche Lake zu verschiedenen Zeiten ihrer Untersuchung; ältere Lake ist unstreitig salzreicher. Den Salzgehalt des hier in Rede stehenden Materials, welches nach Abnahme der Proben aus der Tonne unter Glasstopfen luftdicht aufbewahrt wurde, versuchte ich zunächst direkt im Trockenrückstand zu bestimmen. Da die Trennung der verschiedenen Bestandteile aber nicht ganz glatt geht, andererseits es aber doch wesentlich war, genau die Salzkonzentration der die Hefe enthaltenden Lake zu kennen, so wurde der an sich ja auch bequemere Weg durch Titrieren mittels Silberlösung eingeschlagen.

Es wurden dazu je 0,5 ccm Lake mit 50 ccm Wasser verdünnt

und mit frisch bereiteter  $\frac{1}{10}$  Normal-Silbernitratlösung (unter Zufügung einiger Tropfen Kaliumchromat) versetzt. Diese Bestimmung ist bequem und sicher, die Fehler sehr geringe. Daß die kleine Menge noch vorhandener anderer Chloride als Kochsalz in Rechnung gestellt wird, ist unwesentlich.

Der Salzgehalt unserer Lake ergab sich dabei zu ca. 23 bis 24 Proz.<sup>1)</sup> Die Zahl ist nicht so hoch, als ich vorher annahm, jedoch höher, als man wohl angegeben findet (15 Proz.). Hinter gesättigter Kochsalzlösung (ungefähr 30 Proz.) steht sie jedenfalls noch zurück.

Da die Hefe in 15 Proz. Kochsalz haltenden Lösungen noch lebhaft gedeiht, so scheint mir hiernach die Möglichkeit einer Vermehrung in der Lake selbst noch keineswegs ausgeschlossen. Jedenfalls ist hiermit zunächst festgestellt, daß sie in Lösungen mit ca. 24 Proz. Kochsalz lange Zeit (Wochen und Monate) entwicklungsfähig bleibt.

An festen Stoffen ist natürlich wesentlich mehr in der Lake, wie das die Rückstandsbestimmung beim Abdunsten zeigt. 25 ccm derselben (filtriert) im Gewicht von 29,55 g ergaben ungefähr 8,5 g Trockenrückstand (hygroskopisch), von dem rund 7,7 g in Alkohol unlöslich waren. Daß diese Zahl aber nicht ausschließlich als Kochsalz in Rechnung gestellt werden darf, zeigt die Titrierung. Auf die sonstigen Bestandteile soll an diesem Orte noch nicht näher eingegangen werden.

Angefügt sei hier noch, daß trotzdem die kulturelle Untersuchung so durchschlagende Resultate giebt, ein mikroskopischer Nachweis von Mikroorganismen innerhalb der Lake aus ohne weiteres klar liegenden Gründen (Fetttröpfchen und Fremdkörper, Fischfragmente verdecken alles andere) unthunlich ist.

### Einfluß steigender Salzkonzentration auf die Entwicklung der Hefe.

Es bleibt uns noch die Unempfindlichkeit der Hefe gegen Chlornatrium experimentell etwas näher darzuthun; wengleich das aus dem Mitgeteilten schon hinlänglich hervorzugehen scheint, so war doch speziell noch zu ermitteln, wie steigende Gaben von Kochsalz die Entwicklung beeinflussen und bei welcher äußersten Grenze diese noch vor sich geht. Bezüglich des letzten Punktes kann ich freilich zur Zeit nur angeben, daß diese bei 15 Proz. bei weitem noch nicht erreicht ist; in der ursprünglichen Annahme, daß ein derartiger beträchtlicher Salzgehalt das zulässige Maximum sei, wurden die Versuche darüber hinaus nicht ausgedehnt. Es zeigte sich dann aber alsbald das Unzutreffende derselben.

Vorausgeschickt sei, daß sich alle Resultate auf verdünnte ungehopfte Würze beziehen; es ist das im Hinblick auf die bekannte Thatsache, daß bei derartigen Versuchen die sonstige Zusammen-

1) 0,5 ccm Lake erforderten 20 ccm  $\frac{1}{10}$  Silberlösung = 0,117 g NaCl, somit in 1 ccm Lake = 0,234 g und in 100 = 23,4 g NaCl. Uebrigens entsprechen ja 20 ccm  $\frac{1}{10}$  N.-Silberlösung = 20  $\times$  0,00585 g NaCl = 0,117 g NaCl.

Andere Lakeproben erforderten 20,5–21 ccm (= 24–24,5 Proz. NaCl).

setzung der Nährlösung nicht gleichgiltig ist, zu beachten. Auf die Versuche mit Kochsalzgelatine wurde außerdem oben bereits mehrfach hingewiesen. Das Methodische darf hier wohl übergangen werden; die Art der Versuchsanstellung unterscheidet sich in nichts von der sonst beim Arbeiten mit Reinkulturen üblichen. Die bezüglich sterilisierten, mit Wattepfropf abgeschlossenen Flüssigkeiten wurden mit einer Platinöse der Reinkultur beimpft, waren also im Beginn der Versuchsreihe wasserklar, um sich erst mit Zunahme der Hefenvermehrung zu trüben bez. Deckenbildung und Bodensatz zu zeigen. Das Detail ist übrigens auch aus der Versuchszusammenstellung am Schlusse zu ersehen. Die Einzelversuche wurden in jedem Falle mikroskopisch kontrolliert.

Zum Vergleich wurden die Experimente außerdem mit einer gemeinen Bakterienspecies, welche auf den Fischen wie in verdünnter Lake ganz vorzugsweise als Fäulniserreger auftritt (wahrscheinlich *Proteus vulgaris* Hauser bez. das alte *Bacterium Termo* F. Cohn) und auch auf den Gelatineplatten insbesondere mit geringerem Salzgehalt (3 Proz.) erscheinen kann, angestellt. Gerade diese Resultate sind auch für Beurteilung des physiologischen Charakters der Salzhefe sehr instruktiv, denn es zeigte sich, daß diese Bakterienart unter den gleichen Umständen von 5 Proz. Salz aufwärts nicht mehr zur Entwicklung kam. Die Resultate waren im einzelnen also folgende:

Eine Zugabe von 3–5 Proz. Chlornatrium ist für unsere Hefe etwas nicht ins Gewicht Fallendes; aus einigen Befunden ergibt sich sogar, daß unter solchen Umständen die Entwicklung vorwiegend günstig war (intensive Vermehrung mit baldigem starken Bodensatz und ebensolcher Decke), und die Art somit wohl überhaupt als salzliebend gelten darf. Unter den von den Versuchen eingehaltenen Umständen (Würzekonzentration ca.  $\frac{1}{3}$ , der normalen, auf 25 ccm = 1,25 g Kochsalz, Temperatur 12–14° C) entwickelt sich binnen 2–3 Tagen eine merkliche Trübung oder ein grauweißer aus Hefeflecken hervorgehender Bodensatz und die weitere Vegetation macht dann schnelle Fortschritte.

Steigert man den Salzzusatz auf 10 Proz., so ist gleichfalls nach ungefähr derselben Zeit in der Würze schon eine wahrnehmbare Vegetation vorhanden, die nach weiteren 4–6 Tagen ihrem Höhepunkt nahekommmt. Aber auch 15 Proz. Kochsalz vermögen nur verzögernd zu wirken, indem auch hier im allgemeinen bereits nach 3–5 Tagen eine Entwicklung festzustellen ist, die dann in dem Tempo zunimmt, daß nach ungefähr 10 Tagen ein ansehnlicher Hefebodensatz nebst einer zarten Haut vorhanden ist. Auf die Frage nach dem Einfluß dieser verschiedenen Salzgaben auf das Aussehen der Hefezellen will ich hier nur beiläufig eingehen, denn thatsächlich ist dieser ein geringer (Fig. 5–7). Die Gestalt bleibt beim Ueberimpfen von salzfreier Würze auf solche mit 5, 10 oder 15 Proz. Kochsalz unverändert und nur die Zellgröße sinkt um ein sehr geringes (3–4  $\mu$  gegen 4–5  $\mu$  bei den erwachsenen Individuen). Das Aussehen ist in den starken Salzlösungen insbesondere ein etwas anderes insofern, als die Vakuolen kleiner zu werden pflegen,

also im opt. Durchschnitt schwerer nachzuweisen sind. Somit findet man hier gerade wie in den anderen Fällen das aber weniger stark hervortretende Fetttröpfchen. Bemerkenswert erscheint noch, daß die Zellen sich den unstreitig erheblichen Sprüngen in der Konzentrationsdifferenz (von 0 auf 5, 10 und selbst auf 15 Proz. Salz) ohne merkliche Schwierigkeit anpassen.

Hiernach wird die Salzkonzentration, welche Vermehrung und Stoffwechsel der Hefe aufhebt, immerhin erheblich oberhalb 15 Proz. liegen müssen<sup>1)</sup>, und es erscheint das um so bemerkenswerter, als unter den übrigen Organismen der Heringslake kaum ein zweiter ist, der diesen Salzzusatz mit gleicher Unempfindlichkeit erträgt; speziell auch die genannten Bakterien waren in den gleichen Nährlösungen mit 10—15 Proz. Salz überhaupt nicht mehr zur Entwicklung zu bringen<sup>2)</sup>.

Auf Grund dieser Thatsache erhält man also in einer derartigen Würze, die mit einer Probe Lake versetzt wurde, eine Flüssigkeit, die praktisch fast als eine Reinkultur der Hefe betrachtet werden kann, und man kann sich dieses Verfahren unter sonst richtig gewählten Verhältnissen fast ebenso sicher wie des natürlich aber stets vorzuziehenden Gelatine-Plattenverfahrens zur Isolierung derselben bedienen.

Der Salzgehalt der festen Gelatine wirkt stärker beeinträchtigend auf die Vegetation, indem hier 10 Proz. bereits merklich die Entwicklung verzögern; man muß dabei aber in Rechnung ziehen, daß auf diesem Substrat der Größe der aus dichtgedrängt liegenden Individuen bestehenden Kolonien überhaupt auch ohne Salzzusatz eine Grenze gesetzt ist, in einer frei beweglichen Flüssigkeit die Verhältnisse also andere sind. Eine derartige Gelatine läßt überhaupt nur ganz wenige Organismenarten in zunächst nur dürrtigen Rasen sehr langsam aufkommen (cf. Tabelle), während die Hefekolonien nach 10 Tagen beispielsweise schon gut wahrnehmbar sind, so daß die Vermehrungsthätigkeit hier also bereits eine recht ergiebige gewesen ist. Späterhin freilich (3—4 Wochen) überwuchern auch hier die Mycelpilze.

Endgültig bleibt dann überhaupt noch die Frage nach dem Ausfall der Resultate auf anderen, als den hier gewählten, der Hefe gleichsam „aufgezwungenen“ Substraten; als den naturgemäßen Entwicklungsboden dürfen wir dieselben wohl kaum betrachten können, und es giebt vermutlich in dieser oder jener Beziehung noch günstigere.

Immerhin haben wir nach allem hier einen Organismus vor uns, der in starken Salzlösungen, ähnlich manchen pathogenen Bakterien,

1) Es kommen jedoch in der Lake thatsächlich Bakterien vor, die bei 15 Proz. Salz noch lebhaft wachsen. Auf diese ist in Kürze zurückzukommen.

2) Soweit mir die Litteratur zugänglich, fand ich keine Angaben, denenszufolge ein Organismus noch bei 15 Proz. Kochsalz sich lebhaft entwickelte. Bis zu 10 Proz. wurden von Butterbakterien ertragen (Lafar, „Bakteriologische Studien über Butter“ Archiv für Hygiene, 1891. p. 1). Daß im übrigen Kochsalz selbst in gesättigter Lösung nicht tödend auf Bakterien zu wirken pflegt, ist bekannt; es kann da aber natürlich nicht mehr von einem Wachstum die Rede sein.

lange Zeit lebensfähig bleibt, und welcher — abweichend von den meisten übrigen — noch in 15-proz. Salzflüssigkeiten einen offenbar nicht unerheblichen Stoffumsatz bewirkt, in solchen niederen Salzgehalts aber mit Vorliebe gedeiht. Diese physiologische Eigentümlichkeit darf als ein hervorstechender Charakterzug der Hefe betrachtet werden, und voraussichtlich giebt er auch das einzige wesentliche Merkmal für eine Diagnose ab. Erwünscht ist allerdings, daß zuvor auch die übrigen Sproßpilzformen nach dieser Seite etwas eingehender studiert werden; es wäre nicht ausgeschlossen, daß sich hier die Identität mit irgend einer bereits beschriebenen Art ergäbe.

### Physiologisches.

Neben den bereits erwähnten hierher gehörigen Punkten (Ernährung, Resistenz gegen Kochsalz etc.) bliebe noch einiges andere festzustellen<sup>1)</sup>, und hier stände die Frage nach den Stoffwechselprodukten in erster Linie, denn sowohl in der Würze wie in der Gelatine wird nicht allein Substanz verbraucht, sondern auch solche in der Gestalt von Neben- oder Endprodukten neugebildet bez. umgeformt und abgeschieden. In dieser Beziehung sind meine Ermittlungen, welche übrigens sowohl die besondere Natur des Substrats (Art der Kohlenstoff und Stickstoffquelle) wie den Einfluß des Kochsalzes zu berücksichtigen haben, nun allerdings noch nicht abgeschlossen. Bekannt ist übrigens, daß die Häringslake besondere Zersetzungsprodukte speziell stickstoffhaltiger Substanzen enthält (Trimethylamin), und es entstände die Frage, inwieweit gerade die Hefe an seiner Bildung mit beteiligt ist. Als Stoffwechselprodukt von Mikroorganismen (Bakterien) ist Trimethylamin bekanntlich mehrfach nachgewiesen, wenn es freilich auch bei höheren Organismen nicht fehlt. Die Reaktion der älteren Lake ist jedenfalls annähernd neutral, so daß nennenswerte Mengen von organischen Basen nur in Salzform vorhanden sein können. Es genügt aber eine mittlere Verdünnung, um sogleich ausgesprochen alkalische Reaktion, insbesondere als Folge einer eminenten Bakterienvegetation neben der unserer Hefe, herbeizuführen. Zu beachten bliebe jedoch, daß sich die Vegetationsverhältnisse von Mikroorganismen innerhalb der Lake (und so auch des von ihr durchtränkten Fisches) mit der Zeit ändern und zwar speziell auch in der Richtung eines prozentisch allmählich zunehmenden Salzgehalts (Verdunstung) des Substrats. Wenn also ein Stoffumsatz in der alten Lake nicht mehr vor sich ginge — eine Thatsache, die im übrigen noch zu erweisen wäre — so ist er damit zu einer früheren Periode doch nicht ausgeschlossen, und es muß schließlich von Interesse sein, festzustellen, in welcher Richtung er etwa durch den anfänglichen Salzgehalt, sowie durch ver-

---

1) Auch das Licht ist ohne störenden Einfluß auf die Entwicklung der Kulturen. Was nun die Notwendigkeit des Sauerstoffs betrifft, so kann ich in dieser Beziehung nur angeben, daß die Kolonien selbst am Boden einer 10 cm hohen Gelatineschicht (Reagensglas) noch zur Entwicklung kommen, die Größe war jedoch eine etwas geringere. Schimmelpilzmycelien (*Penicillium glaucum*) stellten in gleicher Situation alsbald ihre Weiterentwicklung ein, blieben also wochenlang ganz zwerghaft, und wuchsen nur an der Oberfläche lebhaft weiter.

schiedene Salzgaben oder vielleicht auch schon die besondere Art des Kochsalzes (für die Praxis kommen nur bestimmte Rohsalze in Frage) beeinflußt würde. Daß der Handelswert der eingesalzenen Fische je nach der besonderen Herkunft ein ungleicher ist, ist ebenso bekannt wie die Thatsache, daß die Methoden der Behandlung nicht überall die gleichen sind<sup>1)</sup>. Wissenschaftliche Grundlagen zur Beurteilung dieser Dinge scheinen bislang noch zu fehlen. Auch der Zeitpunkt des Salzens ist in der Praxis auf die mikrobiologischen Vorgänge, die sich auf, wie in dem gefangenen Fische offenbar bald in nennenswerter Stärke abspielen, ohne Zweifel von bestimmendem Einfluß, und es wäre ein näherer Verfolg derselben gerade in dem ersten Zeitraume, zumal auch mit Rücksicht auf unsere Hefe, immerhin erwünscht; auch früge sich vielleicht, ob bei gänzlichem Ausschluß derselben Lake wie Fisch überhaupt genau die sonst resultierende Beschaffenheit erlangten. Hierin läge zutreffendenfalls ja überhaupt der exakteste Beweis für die Thatsache.

Immerhin bleibt zu beachten, daß die Möglichkeit einer hervorragenden chemisch-physiologischen Leistungsfähigkeit bei einem Organismus aus der Gruppe der Sproßpilze fast außer Frage steht. Mit der bekannten außerordentlichen Kraftentwicklung dieser Organismen bei den gewerblichen Gärungsprozessen finden wir überdies eine seltene Resistenz gegenüber extremen Vegetationsbedingungen (Luftabschluß, Konzentration, Alkohol- wie Essigsäuregehalt des Substrats) vereinigt, wie wir das in der Unempfindlichkeit gegen hohe Kochsalzgaben auch bei der Salzhefe bereits feststellen konnten.

### Herkunft der Salzhefe.

Für diese ergeben sich im ganzen drei Möglichkeiten, von denen mir die, welche eine nachträgliche Luftinfektion der Salzlake betrifft, für weniger wahrscheinlich gilt. Zu ihren Gunsten ließe sich wohl nur anführen, daß eben auch die zahlreichen *Penicillium-glaucum*-Sporen hierher abzuleiten sind. Thatsächlich tritt nun aber dieser letztere Pilz quantitativ sehr stark zurück und dann bleibt doch auch zu bedenken, daß er gerade so gut mit den Gerätschaften, dem Salz und speziell auch aus den ungereinigten, jedenfalls mit saprophyten Vegetationen bedeckten Fässern, in die Lake kommen kann. Das dürfte als zweite Möglichkeit immerhin auch noch für die Hefe in Frage zu ziehen sein.

In letzter Linie scheint mir aber die Hauptquelle derselben anderswo zu liegen, nämlich im Meerwasser bez. auf oder an dem Fisch selbst, wie denn darauf auch die Vorliebe für salzhaltige Substrate schon hindeutet. Dieser Annahme stehen Schwierigkeiten um so weniger entgegen, als das Vorkommen von Sproßpilzen im Meerwasser zumal auch der nördlichen Gebiete nicht allein bekannt, sondern nahezu konstant zu sein scheint<sup>2)</sup>. In der Vegetation der

1) Diese Angaben nach freundlicher persönlicher Mitteilung des hier in der Eigenschaft als Generalsekretär des Deutschen Seefischereivereins thätigen Herrn Prof. Dr. Henking.

2) B. Fischer, Die Bakterien des Meeres nach den Untersuchungen der

Häringslake fände dann diese auf anderem Wege gewonnene Erkenntnis eine nicht uninteressante Bestätigung.

Auf eine Diskussion der etwaigen Identität mit der einen oder anderen der bereits beschriebenen Species darf ich, als einstweilen zu einem bestimmten Resultat nicht führend, verzichten, diese immerhin gegebene Möglichkeit bedarf nur des genaueren Nachweises. Uebrigens tritt eine Farbe (rosa) gelegentlich auch bei den Kolonien der Salzhefe auf, so daß dies Merkmal für eine Artenunterscheidung nicht ganz zuverlässig zu sein scheint. Damit ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß in der Salzlake die eine oder andere Form noch gelegentlich mit vorkommt; bei gleichem Aussehen der Plattenkolonien, sowie gleichem kulturellen und physiologischen Verhalten ist das aber schwer zu entscheiden und es darf einstweilen zunächst nur als sicher gelten, daß speziell in meinem Material weit über  $\frac{9}{10}$  derselben nachweislich der gleichen Species angehören.

Auffällig erscheint endgültig noch die große Zahl der Hefezellen in der Salzlake; da ein derartiger Gehalt des Meerwassers an diesen wohl ausgeschlossen ist, bleiben in der Hauptsache nur drei Annahmen zu seiner Erklärung, entweder vegetiert die Hefe bereits vorher irgendwo an oder im lebenden Fische, oder diese Vermehrung entfällt auf die Zeit vom Fange ab bis zum Einpökeln, oder endlich sie geht noch in der Salzlake vor sich. In zweien dieser drei Fälle hätten wir unstreitig eine thatsächliche Mitwirkung — ob solche nun belanglos oder nicht, käme erst in zweiter Linie in Frage — bei der Erzeugung eines gewerblichen Produkts — wie es der Salzhäring nun einmal ist<sup>1)</sup> — vor uns, und auch die Hochseefischerei hätte (vielleicht in ähnlicher Weise wie die Molkerei) dann mit den Hefen zu rechnen.

Von Interesse wären hier immerhin die von der Hefe konsumierten eigenartigen Nährstoffe; das Substrat bietet ihr nicht Kohlenhydrate, sondern fast ausschließlich Substanzen fett- und eiweißartigen Charakters bez. sonstige Stickstoffverbindungen; in gewisser Beziehung stellt sie sich also der normalerweise in der Gestalt von Alkohol oder Essigsäure gleichfalls relativ fremdartige Produkte konsumierenden Kahlhefe (*Saccharomyces Mycoderma*) an die Seite, von beiden werden freilich auch Kohlenhydrate leicht verarbeitet. Uebrigens kennen wir ja auch sonst vorwiegend „animalische“ Kost aufnehmende Sproßpilze. Für die Art der Stoffumsetzungen und somit auch die Natur der Nebenprodukte spielt naturgemäß die chemische Beschaffenheit des als Nährstoff gebotenen Materials eine wesentliche Rolle.

Es liegen hier alles in allem somit immerhin genügend Fragen von allgemeinerem wie auch speziell einigem praktischen Interesse vor.

Plankton-Expedition. Kiel 1894. (Ergebnisse der Plankton-Expedition der Humboldtstiftung. p. 80.)

1) Der Wert dieses Gewerbes beläuft sich — wiederum nach freundlicher Mitteilung von Prof. Henking — für Deutschland allein auf ungefähr 50—40 Mill. Mark.



## Experimentelle Belege.

I. Plattenkulturen mit Salzgelatine (10 Proz. Gelatine, 8 Proz. Kochsals), unter Zusatz einiger Tropen Häringslake. Wachstumstemperatur  $\pm 15^{\circ}$  C. Alle Platten lagen in der gleichen feuchten Kammer.

	Nach 3 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 12 Tagen
1) Platte 1 mit unfiltr. Salzlake.	Die Platten sind dicht mit grau-weißen Pünktchen (Hefe) besät. Neben ihnen sparsamer Schimmelflecke und einzeln verflüssigende Bakterienkolonien.	Größenzunahme der Kolonien. Nach oberflächlichem Auszählen ca. 120—140 Schimmelflecke und annähernd 5000—6000 graue runde Fleckchen (Hefe)	Versuchsende. Vernichtung der Platten durch verflüssigende Bakterien unter Trübung, Fäulnisgeruch und stark alkalischer Reaktion.
2) Platte 2; dsgl.			
3) Platte 3; Lake vorher filtr.	Von No. 1 und 2 nur durch etwas geringere Zahl der Kolonien verschieden.	Schimmelflecke (Penic. glauc.) rund 28 Stück. Zahl der Hefekolonien nur wenig vermindert. Verflüssigende Bakterien nehmen zu.	
4) Platte 4; Kontrollplatte (ohne Lake).	0 (Platte ganz unverändert)	3 Schimmelflecke (Penic. gl.), sonst ohne Veränderung.	Wenig Veränderung. Nur Größenzunahme der früheren Kolonien.
5) Platte 5; Kontrollplatte.	0 (Wie No. 4.)	4 Schimmelflecke und 1 Bakterienkolonie auf der ganzen Platte.	

II. Plattenkulturen mit der gleichen Salzgelatine jedoch mit einer zweiten, drei Wochen älteren Lakeprobe. Bestimmung der Keimzahl (vergl. Text). Alle Platten lagen in einer feuchten Kammer.  $15^{\circ}$  C.

	Nach 5 Tagen	Nach 10 Tagen
6) Platte 1; 5 ccm Gelatine enthält $\frac{1}{120}$ ccm Salzlake.	Hefekolonien rund 80. Schimmelflecke 20. Bakterienkolonien 8 (verfl.).	Hefekolonien auf 0,5—1 mm Durchmesser angewachsen; Penicilliumrasen bis 3 cm im Durchmesser (Nur 1 Nichtpenicillium).
7) Platte 2; dsgl.	Hefekolon. 106. Schimmelson. 15. Bakterien (verflüss.) 5.	Bakterienverflüss. stark um sich gegriffen. (Die Platten wurden in diesen Versuchen aus anderweitigen Gründen weiter beobachtet.)
8) Platte 3; (Petrischale) dsgl.	Hefekolon. rund 100. Schimmelflecke zahlreich. Bakterienkolon. nur einzeln.	Schalen von den Penicilliumflecken fast überwuchert.
9) Platte 4; Kontrollplatte (ohne Lake).	Schimmelflecke 5 <sup>1)</sup> , sonst 0.	Wie vorher (außerdem stellenweise durch Verflüssigung und Schimmelbildung verschmutzt).
10) Platte 5; dsgl.	Schimmelflecke 4. Bakterienkolon. 1. Sonst 0.	
11) Platte 6; dsgl.	Schimmelflecke 4. Bakterienkolon. (verfl.) 2. Sonst 0.	

1) Das Penicillium auftreten auf den Kontrollplatten erklärt sich offenbar durch die bereits nach 2—3 Tagen beginnende Conidienbildung auf den Lakeplatten.

HL. Plattenkulturen mit einer 10-proz. Salzgelatine unter Verwendung stark verdünnter Lake (auf 80 ccm Gelatine =  $\frac{1}{120}$  ccm Salzlake; also wie in No. II pro Platte ca.  $\frac{1}{720}$  ccm). — Alle Platten in derselben Kammer: Temperatur  $\pm 15^{\circ}$  C.

	Nach 10 Tagen	Nach 20 Tagen (Versuchsabschluß).
12) Platte 1; rund 5 ccm Gelatine.	Vereinzelt sehr kleine oder etwas größere Hefekolonien u. Penicilliumräschen.	10 Schimmelrasen (4 br. 1. w. 5 Pen.). 50 Hefekolonien (viele rosa). Hier wie auch weiter unten z. T. noch sehr klein (sonst bis 0,3 mm).
13) Platte 2; dsgl.		12 Schimmelrasen (4 br. 1 w. 7 Pen.). 52 Hefekol. (teils rosa).
14) Platte 3; dsgl.		6 Schimmelrasen (2 br.). ca. 30 Hefekolonien.
15) Platte 4; mit rund 7,5 ccm Gelatine.		28 Schimmelrasen (3 br. 6 w. 19 Pen.) ca. 40 Hefekolon.
16) Platte 5; Kontrollplatte 5 ccm Gelatine (ohne Lake).	0.	4 Schimmelrasen (nur Pen.). Sonst 0.
17) Platte 6; Kontrollplatte (dsgl.).		14 Schimmelrasen (2 br.). Sonst 0.

Schimmelrasen bis 4 cm i. Dm. u. stark verflüssigend. Reichlich Konidien bildend (grau-grün, olivfarben und weiß).

Diese Infektionen offenbar durch von den anderen Platten abstäubende Konidien.

IV. Kulturen in verdünnter Würze mit steigendem Salzgehalt. (ca.  $15^{\circ}$  C).

	Nach 3 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 25 Tagen
18) Reinkulturaussaat der Hefe (Platinöse). Ohne Salzzusatz.	Am Boden ansehnliche Hefeflecke.	Voraufigehende starke Trübung (Gasblasen) hat zu ein. dicken grauweißen Hefebodensatz geführt	Klare Flüssigkeit dicker Hefebodensatz (vgl. Fig. 7 d. Taf.).
19) Dsgl. mit 5 Proz. Salz (auf 25 ccm Würze = 1,25 g Salz).	Merkliche Trübung der Flüssigkeit.	Hautbildung und starker weißgrauer Bodensatz (wie No. 18 bereits geklärt).	Wie No. 18.
20) Dsgl. mit 10 Proz. Salz (25 ccm Würze = 2,5 g).	Deutlicher Hefebodensatz.	Zarte Haut und starker weißgrauer Hefebodensatz.	Wie No. 18 u. 19 (mikroskop. Bild: Fig. 6 d. Taf.).
21) Dsgl. mit 15 Proz. Salz (25 ccm Würze = 3,75 g).	Spur eines Hefebodensatzes.	Trübung und Bodensatz.	Noch Trübung und zarte Häutchen. Weißer Bodensatz (= Fig. 5 d. Taf.).
22) Reinkulturaussaat des verflüssigenden Bakteriums unter ganz denselben Versuchsbedingungen wie No. 18—21. Ohne Salzzusatz.	Bakterientrübe bereits vom 2. Tage ab stark zunehmend.	Starke Bakterienentwicklung (Trübung u. Bodensatz).	Wie vorher.
23) Dsgl. mit 5 Proz. Salz.	0 (unverändert.)	0 (klarbleibende Flüssigkeit)	0
24) Dsgl. mit 10 Proz. Salz.	0 (ohne Veränderung.)	0 (am Boden eine sich langsam entwickelnde Schimmelinfection).	0 (Schimmelpolster am Boden an Größe zugen.)
25) Dsgl. mit 15 Proz. Salz.	0 (unverändert.)	0 (unverändert.)	0

	Nach 5 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 25 Tagen
26) Aussaat von abgeklärter Salzlake (1 ccm) in Würze (100 ccm von ca. 5°S.). Letztere aufgekocht u. Watterverschluß. Ohne Salzzusatz. (Bewegung nach der Aussaat fand während der Versuchsdauer nicht statt.)	Bakterientrübe neben einzelnen Hefeflecken an Oberfläche und Boden.	Matte Hefeinseln treten außerdem auf Oberfläche auf u. wachsen rasch aus.	Starke Zunahme der Vegetation (Bakterien und Hefe) Haut, Trübe u. Bodensatz.
27) Dsgl., doch mit 5 Proz. Salz (5 g).	Trübung und rasch fortschreitende matte Hefehaut.	Dichte Hefehaut von mattgrauer Färbung; viel Hefebodensatz.	Überall starke Hautbildungen. Trübe und ansehnliche grauweiße Bodensätze (Bakterien und Hefe).
28) Dsgl. mit 10 Proz. Salz (10 g)	Ziemlich klar, am Bod. zahlreiche Hefeflecke.	Weiterentwicklung der Flecke.	
29) Dsgl. mit 15 Proz. Salz (15 g).	Klar, am Boden Hefeflecke.	Oberflächliche matte Hefeinseln sind hinzugekommen.	

V. Lake-Aussaaten in Gelatine (10 Proz.) mit wechselndem Salzgehalt.

30) 3 Proz. Salz. 10 ccm Gelatine in Reagensglas mit 1 Tropfen Lake gemischt.	Entwicklung von Hefe-, Bakterien- und Schimmel-Kolonien; nach 3—4 Tagen lebhaftere Verflüssigung der ganzen Masse beginnend, unter Fäulnisgeruch.
31) 3 Proz. Salz. 20 ccm Gelatine in Reagensglas mit Spur Lake ( $\frac{1}{100}$ ccm) gemischt.	In den nächsten Tagen treten Hefe-Kolonien neben sparsamen Mycelflocken in der ganzen Masse auf. Bakterien fehlen noch; (die Masse bleibt 20 Tage fest). Weiterhin von oben her verflüssigt.
32) 10 Proz. Salz. 7,5 ccm Gelatine mit $\frac{1}{500}$ ccm Lake.	Nach 10 Tagen von zahlreichen kleinen Pünktchen (Hefe-Kolonien) durchsetzt. Vereinzelt Mycelien. Bakterien fehlen. Hefen teils rosa.
33) 10 Proz. Salz. 20 ccm Gelatine mit 5 Tropfen Lake in flacher Schale.	Zahlreiche Hefe-Kolonien (Hunderte nach Schätzung) und sparsamere Mycelien (15) treten nach einigen Tagen auf. Bakterien fehlen zunächst. Verflüssigung langsam durch Mycelien (nach 20 Tagen).

Tafelerklärung.

Fig. 1. Zellformen der Salzhefe aus einer Kolonie auf Salzgelatine, nach Abnahme von der Platte (mit Wasser unter Deckglas zerdrückt); opt. Durchschn. Vergr. 1000 (Ocul. 3, Obj. 7 des Altmann'schen Bakterienmikroskops).

Fig. 2. Kolonie auf Gelatine bei mittlerer Vergr. (200).

Fig. 3. Kolonie des verfl. Bakteriums (cf. Text) bei gleicher Vergr.

Fig. 4. Einzelformen desselben, nach Färbung mit Karbolfuchsin gezeichnet. Vergr. ca. 1200. (Altmann, Ocul. 3. Obj. 7.)

Fig. 5—7. Salzhefe, Reinkulturen in verd. Bierwürze mit und ohne Kochsalzzusatz. Opt. Durchschn. Vergr. ca. 900.

Fig. 5 = 15 Proz. Kochsalz, Fig. 6 = 10 Proz, Fig. 7 = ohne Kochsalz. Die Präparate wurden gleichzeitig den drei bezüglichen Kulturkolben (No. 18, 20 u. 21 der Versuche) entnommen.

Fig. 8—9 = Kulturplatten mit Salzgelatine (3 Proz. Salz) nach 4 tägiger Versuchsdauer, stückweise (ca.  $\frac{1}{2}$ ) gezeichnet. Nat. Gr.

Fig. 8 = ohne Zusatz von Häringslake (Kontrollplatte).

Fig. 9 = mit einer Spur Häringslake versetzt. Die Pünktchen sind ausschließlich Hefenkolonien; daneben Penicillium-Rasen.

Fig. 1.

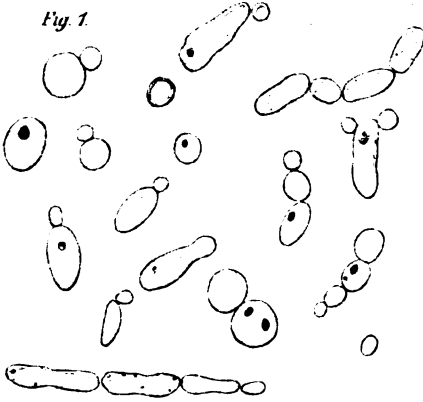


Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.

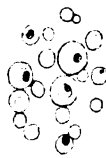


Fig. 7.



Fig. 8.

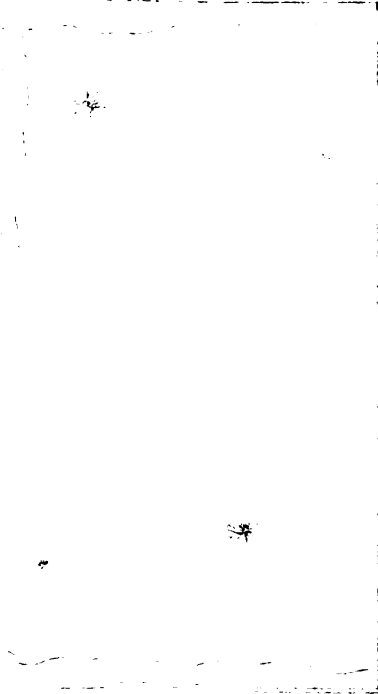
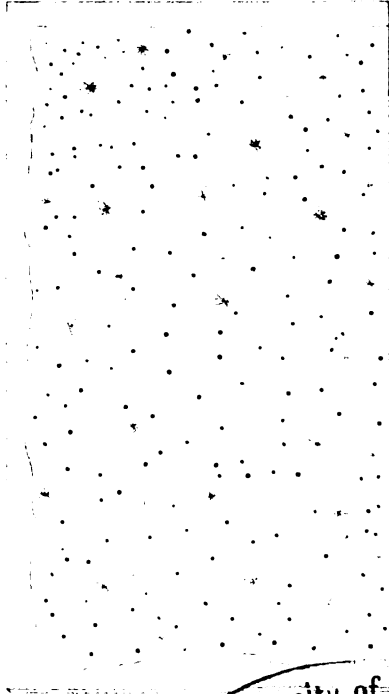


Fig. 9.





*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur Kenntnis der Essigbakterien.

[Aus dem kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle a. S.]

Von

Dr. Wilhelm Henneberg

in

Halle.

Bezüglich der Morphologie des *Bacterium aceti* finden sich in der Litteratur gewisse Widersprüche. So ist in allen 3 Auflagen seit 1882 „der Spaltpilze“ von Zopf ausdrücklich gesagt, daß *Bact. aceti* Schwärmzustände aufweist. Er fand dasselbe auf deutschen untergärigen Bieren aus berliner und halleschen Brauereien.

Emil Chr. Hansen dagegen erwähnt weder in seiner früheren Untersuchung<sup>1)</sup> noch in seiner neuesten wichtigen Arbeit<sup>2)</sup> etwas von Schwärmstadien, weil solche bei seinem aus dänischen Bieren gewonnenen *Bact. aceti* thatsächlich nicht existieren. Ich habe mich selbst hiervon an Originalmaterial, was mir Prof. Hansen freundlichst zur Verfügung stellte, überzeugen können.

A. J. Brown<sup>3)</sup> wiederum hat für sein aus englischem Biere stammendes *Bact. aceti* gleichfalls ausdrücklich Schwärmzustände angegeben.

Hieraus folgt, daß *Bact. aceti* im heutigen Sinne eine Sammel-species darstellt, die mindestens 2 Arten umfaßt: nämlich das schwärmfähige *Bact. aceti* Zopf und das nicht schwärmfähige *Bact. aceti* Hansen. Ob das *Bact. aceti* Brown eine dritte Species darstellt oder mit *Bact. aceti* Zopf identisch ist, muß dahingestellt bleiben.

Ich habe nun versucht, das schwärmfähige *Bact. aceti* Zopf wieder zu bekommen, indem ich nach Zopf's mündlichen Angaben ein untergäriges hallesches Bier (aus Freyberg's Brauerei) bei ca. 25—27° 24 Stunden in Schalen stehen ließ, und habe so thatsächlich auch ein schwärmfähiges Essigbacterium erhalten. Dagegen erhielt ich auf obergärigem Bier (Döllnitzer Gose) bei derselben Temperatur ein nicht schwärmfähiges Essigbacterium. Es wurden beide Arten näher untersucht und mit anderen, insbesondere mit den durch Hansen genauer bekannten Essigbakterien, *Bact. aceti*, *Bact. Kützingianum*, *Bact. Pasteurianum*, die das krypt. Laboratorium der Gefälligkeit des Prof. Hansen verdankte, verglichen. Hierbei stellte sich heraus, daß beide Arten neu sind. Ich werde daher das schwärmfähige Bacterium, da es als *Bact. aceti* Zopf aus Prioritätsgründen nicht mehr

1) Contributions à la connaissance des organismes, qui peuvent se trouver dans la bière et le moût de bière et y vivre; *Mycoderma aceti*. (Meddelelser fra Carlsberg-Laboratorie, 1879. Heft 2.)

2) Recherches sur les bactéries acétifiantes. Volume III, 1894.

3) The chemical action of pure cultivations of *Bact. aceti*. (Journal of the chemical Society, Vol. XLIX, 1886.)

bezeichnet werden kann, *Bact. oxydans*, die nicht schwärmfähige Art *Bact. acetosum* benennen. Im Folgenden sollen einige der bisher gewonnenen Resultate meiner Untersuchung mitgeteilt werden. Eine ausführlichere, mit Abbildungen begleitete Darstellung wird später gegeben werden, zugleich mit der Beschreibung einiger anderer Arten, deren Untersuchung noch zu wenig abgeschlossen ist.

Die Kolonien des *Bact. oxydans*, welche in Schalen auf 7 Proz. Dextrosegelatine aus einer Zelle sich entwickelt hatten, zeigten zunächst eine rundliche Gestalt und gingen später in eine unregelmäßige, am Rande stark ausgebuchtete Form über. Wurde eine Nährgelatine von nur 5 Proz. Gelatine angewandt und die Schalen sehr feucht gehalten, so erhielt ich öfters Kolonien, die sich über die ganze Oberfläche dendritisch ausbreiteten. Im Vergleich mit den Hansen'schen Arten zeigte *oxydans* in Strichkulturen am meisten das Bestreben, vom Impfstriche aus sich möglichst weit auszudehnen. *Bact. acetosum* charakterisierte sich in Impfstrichen durch einen stärker konfigurierten, feiner zerteilten Rand. Von den anderen Arten unterscheidet sich *Bact. oxydans* durch die dickere, schleimige, schmutzig-weißliche Masse, die die Kolonien bilden.

Die Kahmhautbildung ist bei *Bact. oxydans* nicht sehr ausgesprochen. Die Haut erscheint aus einzelnen Inseln zusammengesetzt. Auf sterilem Bier erhielt ich eine sehr zarte Haut, die am Rande an den Glaswänden des Gefäßes sehr hoch emporstieg. Diese Eigentümlichkeit hat diese Art mit *Bact. Kützingianum* gemeinsam. Auf einigen Nährlösungen, wie Mannit oder Dextroselösungen bildete sich ebenfalls nur eine ganz zarte Haut. Da die einzelnen Elemente dieser Haut leicht außer Verband treten, so verteilen sie sich leicht in der Flüssigkeit und bewirken die Trübung, die man wie bei *Bact. Kützingianum* stets in Kulturen auf Bier antrifft. Peptonlösungen zeigten sich durch *Bact. oxydans* und *Bact. acetum* stark getrübt. Die Haut ist im jungen Zustande aus einzelnen Zellpaaren, später aus schönen langen Ketten zusammengesetzt.

*Bact. acetosum* dagegen zeigt eine sehr feste Hautbildung. Sie ist völlig gleichmäßig, glatt, von weißlicher Farbe und von großer Festigkeit. Das Bestreben, an den Glaswänden emporzuwachsen, ist nicht so stark ausgebildet wie bei *Bact. oxydans* und *Bact. Kützingianum*. Eine ältere Haut bildet eigentümliche Falten und erinnert hierdurch und in der Farbe sehr an eine *Mycoderma*haut. Die Flüssigkeiten bleiben stets klar. Auf einer 6-proz. Dextrosenährlösung bildete *acetosum* eine Haut, die aus ganz isolierten Inseln sich zusammensetzte, welche sich beim Schütteln auf der Oberfläche erhielten.

Die Festigkeit der Haut hängt zusammen mit der ausgesprochenen Kettenbildung der Zellen, die auch beim Herausnehmen mit der Platinnadel in Verband bleiben. Diese Zellenfäden erinnern sehr an die von *Bact. Pasteurianum*, mit welchem *Bact. acetosum* auch die Größe der Zellen gemeinsam hat.

Schwärmzustände finden sich nur bei *Bact. oxydans*. In diesem Stadium finden sich die Zellen meist zu 2, nur selten einzeln oder zu 4 vereint. Die Bewegung ist sehr schnell und scheint durch

polare Cilien bewirkt zu werden, da die Art der Bewegung ein Drehen um die Querachse ist. Färbversuche sollen darüber noch entscheiden. Wie die Hansen'schen Arten, besonders *Bact. aceti*, bilden beide von mir isolierten Arten unter bestimmten Bedingungen auch fadenförmige, scheinbar ungegliederte, sehr lang gestreckte Zellen (früher zu den Involutionsformen gerechnet). Finden sich bei niederen Temperaturen bei *Bact. oxydans* zwischen regelmäßigen Zellen beinahe immer einige lange Zellen, so erhält man solche in Bier bei 36° fast ausschließlich. Aus solchen langen, gleichmäßigen Fäden ist ebenso die Haut von *Bact. acetosum* bei 36°, auf Bier kultiviert, zusammengesetzt. Außerordentlich charakteristisch und zur Unterscheidung der Arten wichtig erscheint mir nun die Bildung von besonders auffallenden hypertrophischen Formen. Bei *Bact. oxydans* erhielt ich auf Würze, der etwas Alkohol zugesetzt war, nach dreitägigem Stehen bei 30°, in einem zweiten Versuch auf sterilisiertem Bier bei 26° nach 2 Tagen Zellfäden mit eigentümlichen, kopfförmig aufgeschwollenen Seitenästchen. *Bact. acetosum* bildete auf Gose nach 2 Tagen bei 30° stark blasig aufgeschwollene, meist spindelige Formen, die in dieser Größe bei den übrigen Arten nicht beobachtet wurden. Auf Lagerbier blieben es nur wenig angeschwollene Zellfäden. Mit Jod färben sich weder *Bact. oxydans* noch *Bact. acetosum* blau, stimmen also mit *Bact. aceti* hierin überein.

Die Temperatur für das Optimum des Wachstums liegt bei *Bact. oxydans* wesentlich tiefer als bei *Bact. aceti*. In Parallelversuchen mit den 3 Arten von Hansen zeigte *Bact. oxydans* bei gewöhnlicher Zimmertemperatur das schnellste Wachstum. Auf gleichem Substrat bei den Temperaturen von 30°, 25° und 20° war bei *Bact. oxydans* bei 25° und 20° die Kultur am besten gewachsen. *Bact. acetosum* wächst ebenfalls schneller bei Zimmertemperatur als die genannten Arten, doch ist bei 30° sein Wachstum auch noch ein ganz günstiges. Das Eintreten der Schwärmzustände bei *Bact. oxydans* und die Dauer des Schwärmens ist sehr von der Temperatur abhängig. In gewöhnlicher Zimmertemperatur im Winter trat das Schwärmen am 2. oder 3. Tage nach der Impfung auf und konnte auf sterilisiertem Bier höchstens 13 Tage, auf Mannitlösung sogar einmal nach 18 Tagen noch beobachtet werden. War die Temperatur des Zimmers nur um einige Grade höher oder bei 26° im Brutschrank, trat die Schwärmerbildung schon nach 20 Stunden auf, dauerte aber dann nur kurze Zeit (etwa 2 Tage). Bei 30° und höherer Temperatur ist bis jetzt noch keine Schwärmbildung nachgewiesen, doch dürfte diese nach kurzer Zeit, also vor der Untersuchung schon beendet gewesen sein.

Einige Male konnte durchaus kein Schwärmen beobachtet werden in ganz gleich behandelten Bierkulturen. Dies scheint mit dem Alter des Impfmateri als im Zusammenhang zu stehen. Es zeigte z. B. eine Kultur von einem Monat altem Material nach 20 Stunden beinahe alle Zellen im Schwärmzustand, eine solche von 1½ Monat altem Materiale selbst nach 3 Tagen keine Schwärmerzelle. Bringt man von einer Kolonie etwas in Wasser oder Bier, so kann man fast stets sofort einige Zellen im Schwärmzustand erblicken. Die Schwärmerbildung wurde



in fast allen angewandten Nährlösungen beobachtet, besonders schön in Mannitlösungen. Nicht mehr schwärmende Kultur konnte durch Zugabe von frischem sterilisierten Biere einige Male wieder zum Schwärmen angeregt werden. Dies gelang auch durch Zusatz von einigen Tropfen Alkohol. Versuche, durch Essigsäure oder essigs. Natrium die Kultur länger im Schwärmzustande zu erhalten, zeigten kein besonderes Resultat. Die obere Temperaturgrenze des Schwärmvermögens wurde für eine 25 Stunden alte Kultur bei  $44^{\circ}$  gefunden. Wurde 5 Minuten die Temperatur auf  $37^{\circ}$  gehalten, schwärmten noch sehr viele Zellen, ebenso lange auf  $40^{\circ}$  erwärmt, hatte das Schwärmen völlig aufgehört. Für *Bact. oxydans* liegt die Temperatur für Abtötung der Zellen durch feuchte Hitze zwischen  $55$  und  $60^{\circ}$ , durch trockene Hitze zwischen  $97$  und  $100^{\circ}$ . Die Temperaturen für die oxydierende Thätigkeit bietet bei den einzelnen Arten Verschiedenheiten dar, die zur Unterscheidung verwandt werden könnten. Zu diesen Versuchen wurde eine Nährlösung gewählt, die 2 Proz. Dextrose, 0,3 Proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,2 Proz.  $\text{SO}_4\text{Mg}$ , 0,2 Proz.  $\text{ClNa}$  und in den verschiedenen Versuchsreihen verschiedene N-Verbindungen enthielten.

#### *Bact. Pasteurianum.*

$36^{\circ}$  keine Säuerung während der ganzen Versuchsdauer (25 Tage).  
 $27^{\circ}$  nach 12—15 Tagen Säuerung.  
 $20^{\circ}$  keine Säuerung ( $\text{KNO}_3$ ).  
 $8^{\circ}$  keine Säuerung.

#### *Bact. Kützingianum.*

$36^{\circ}$  Säuerung nach 8—12 Tagen in einigen Versuchen.  
 $27^{\circ}$  nach ca. 8 Tagen.  
 $20^{\circ}$  in einer Versuchsreihe ( $\text{KNO}_3$ ) nach 28 Tagen.  
 $8^{\circ}$  keine Säuerung.

#### *Bact. aceti.*

$36^{\circ}$  schon am 3. Tage.  
 $27^{\circ}$  am 4. bis 5. Tage.  
 $20^{\circ}$  am 8. Tage ( $\text{KNO}_3$ ).  
 $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  nicht bis zum 20. Tage.  
 $8^{\circ}$  nach 20 Tagen ( $\text{KNO}_3$ ).  
 $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  nicht bis zum 20. Tage.

#### *Bact. oxydans.*

$36^{\circ}$  in einigen Versuchen nicht.  
in Asparaginlösung am 5. Tage.  
 $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  am 4. Tage.  
 $27^{\circ}$  stets am 4. Tage.  
 $20^{\circ}$  am 4. Tage ( $\text{KNO}_3$ ) am 5. Tage (Pepton).  
 $8^{\circ}$  am 4. Tage bei  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ .  
am 14. Tage ( $\text{KNO}_3$ ).  
am 8. Tage bei Asparagin.

#### *Bact. acetosum.*

$36^{\circ}$  in einigen Versuchen schon am 2. Tage, in anderen am 4. oder 8. Tage.

27° bei allen am 2.—4. Tage.

20° am 8. Tage. (KNO<sub>3</sub>).

am 5. Tage (Pepton). 8° am 14.—15. Tage.

Aus diesen Angaben, die aus mehreren Versuchsreihen zusammengestellt sind, sieht man, daß *Bact. Pasteurianum* Säure bildet nur bei 27°, *Bact. Kützingianum* bei 27 und auch bei 36°, *B. aceti* bei 36° am besten, bei 27° weniger, bei 20° in 1 Versuch, bei 8° erst nach 20 Tagen, *Bact. oxydans* bei allen Temperaturen, am besten bei 27 und 20°, bei 36° in 4 Versuchen nicht, *Bact. acetosum* bei 36° nur in 1 Reihe (KNO<sub>3</sub>) nicht, bei 27° am besten, bei 20° nach 5 Tagen, bei 8° erst nach 13 Tagen.

Die Oxydation von Alkohol in Essigsäure geht am besten bei *Bact. oxydans* von statten bei einer Temperatur von 27—23°. Bei 36° hatten sich nach 11 Tagen nur einige Hundertstel Prozent Essigsäure gebildet.

Die Kulturversuche mit beiden Bakterien wurden teils mit Bier, mit Würze, teils mit künstlichen Nährlösungen angestellt. Dextrose oder Würzegeatine resp. Agar bilden günstigen Nährboden. Der Stickstoffbedarf konnte von allen Arten durch Kalisalpeter, Asparagin, schwefelsaures Ammonium, weinsaures Ammonium oder durch Pepton gedeckt werden. Wenn auch Säuerung zu konstatieren war, konnte in verschiedenen Fällen keine Hautbildung wahrgenommen werden. Versuche, in denen keine andere Kohlenstoffquelle als weinsaures Ammonium oder niedere Alkohole wie Methyl-, Aethyl-, Propyl-Alkohol sich vorfanden, zeigten keine Entwicklung.

Was schließlich die Einwirkung auf das Substrat betrifft, so konnte bei allen Arten eine Oxydation von Dextrose beobachtet werden. Die chemische Untersuchung dieser Säure habe ich mir noch vorbehalten. *Bact. oxydans* und *acetosum* scheinen Dextrose am besten zu oxydieren, am wenigsten gut *Bact. Pasteurianum*. Maltose wird sehr gut oxydiert von *Bact. oxydans*, von *Bact. acetosum* dagegen, wie bis jetzt die Versuche zeigten, nur wenig. Ebenso wird Galactose nur von *Bact. oxydans* oxydiert. Resultatlos bis jetzt verliefen bei allen Arten die Versuche mit Rohrzucker und Milchzucker. Von den Körpern der Cellulosegruppe wurde bis jetzt Inulin und Dextrin versucht. Es zeigt sich, daß nur *Bact. oxydans* Dextrin oxydieren kann.

An Alkoholen oxydierten *Bact. oxydans*, Erythrit und Mannit, *Bact. oxydans* und *Bact. acetosum* Methyl-Alkohol. Glycerin wird, wie die Versuche bis jetzt zeigen, von keiner der untersuchten Arten oxydiert. Propylalkohol wurde bisher nur bei *Bact. oxydans* versucht und anscheinend mit positivem Resultate. Aethylalkohol wird von allen fünf Arten oxydiert, dagegen ist der Grad des Oxydationsvermögens bei den verschiedenen Arten verschieden. Dies sollen einige Angaben zeigen:

*Bact. aceti*. + 5 ccm Alkohol auf 100 ccm steril. Bier in 18 Tagen = 6,78 Proz. Essigsäure.

*Bact. Kützingianum*. + 2 ccm Alk. in 18 Tagen = 5,38 Proz.

*Bact. acetosum* + 2,5 ccm Alk. in 18 Tagen = 5,37 Proz.

+ 4,3 ccm Alk. in 11 Tagen = 5,9 Proz.

Während also diese 3 Arten sich als gute Essigbildner erwiesen, steht *Bact. Pasteurianum* und *Bact. oxydans* ihnen hierin sehr nach.

*Bact. Pasteurianum*. + 2,8 ccm Alk. in 18 Tagen = 0,55 Proz.  
+ 1 ccm in 23 Tagen = 1,5 Proz.

*Bact. oxydans*. + 3,5 ccm Alk. in 18 Tagen = 1,59 Proz.  
kein Alkoholzusatz in 8 Tagen = 2 Proz.

Weitere Versuche über die Oxydationsfähigkeit dieser Arten werden wohl noch andere wichtige Unterscheidungsmerkmale anzeigen.  
10. März 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber ein Nitrosobakterium mit neuen Wuchsformen.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität München.]

Von

Dr. W. Rullmann

in

München.

Mit 1 Figur.

Anschließend an die ergebnisreichen Arbeiten von Winogradsky, Burri, Stutzer u. A. habe ich eine Anzahl von Fehlböden und Erdproben auf ihre Nitrifikationsfähigkeit untersucht.

Ich benutzte die von genannten Forschern gesammelten Erfahrungen und verwendete zur Beobachtung und Züchtung die von Winogradsky eingeführten anorganischen Nährlösungen mit Ammonsulfat und mit Natriumnitrit; als festen Nährboden nahm ich Nitritagar.

Ohne jetzt auf die erhaltenen Resultate genauer einzugehen, ist es der Zweck dieser Zeilen, auf eine bis jetzt wohl noch nicht beobachtete Form aufmerksam zu machen.

Indem ich mittels mehrfacher Uebertragung auf frisches Nährmaterial die Erzielung von Reinkulturen versuchte, fand ich bei Prüfung einer Nitritagarplatte Formen eigentümlicher Art, welche mir Veranlassung zur Durchmusterung der sämtlichen Kulturen gaben; so gelangte ich zu folgendem Ergebnis:

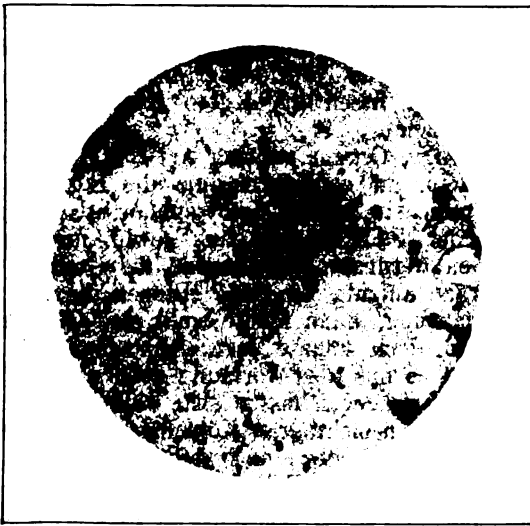
Das betreffende Bakterium, welches, auf Nitritagar gezüchtet, zunächst als dickes anisodiametrisches Kurzstäbchen sich darstellte, ist in vielen der untersuchten Erdproben vorhanden und zwar um so reichlicher, je energischer die Nitrifikation verläuft. Es ist ein Nitritbildner und würde somit u. U. der bereits bekannten *Nitrosomonas* zuzuzählen sein, wenn ihm nicht die Eigenbewegung und die auch von Lafar<sup>1)</sup> angeführten Geißeln fehlten.

Nennen wir dasselbe bis zum Abschluß der Untersuchungen

1) Lafar, Technische Mykologie. Bd. I. p. 336. Jena 1897.

*Nitrosobacterium formae novae*, so ist anzuführen, daß es auf den gewöhnlichen organischen Nährböden wie Agar-Agar, Blutserum, Bouillon, Bierwürze etc. nur in der Form der erwähnten Kurzstäbchen wächst.

Strichkulturen auf Gelatine (nicht verflüssigend) zeigen makroskopisch perlschnurartig aneinandergelagerte Kolonien. Die Einzelnen (bei gegossenen Platten) sind sehr klein und von granuliertem Aussehen, der Rand nach außen immer feiner verschwimmend und an der äußersten Grenze sehr feine haarförmige Ausstrahlungen zeigend. Mikroskopisch zeigen sich kürzere oder längere Fadenverbände mit ganz scharfer Abgliederung; die einzelnen Glieder zeigen sich als Kurzstäbchen mit sehr deutlicher Polfärbung, in der Größe denen



auf Nitritagar ganz gleich, während die Form auf letzterem sich noch etwas mehr abrundet.

Auch alte Kulturen zeigen auf diesen organischen Nährmedien keine Neigung zu morphologischer Aenderung, nur tritt in den flüssigen Substraten Bildung eines äußerst zähen Schleimes ein.

Ueberträgt man aber auf Nitritagar oder auf die flüssigen anorganischen Nährlösungen, dann treten nach einigen Tagen die auf beigefügter Abbildung<sup>1)</sup> ersichtlichen Formen mit einfachen und verästelten Fäden auf. Von diesen Nährböden wieder auf die gewöhnlichen übertragen, vermehrt es sich nur in der Form der beschriebenen Kurzstäbchen, welche sich auf Nährgelatine dann vielfach in den er-

1) Zur Herstellung der vorliegenden Autotypie aus dem bekannten hiesigen Meisenbach'schen Kunstinstitute ist eine Photographie verwendet, welche nach einem Präparate (1000-fache Vergrößerung, Zeiß-Immersion) in der sehr empfehlenswerten mikrophotographischen Anstalt von Dr. Reiter hier, Liebigstraße 37, gefertigt wurde.

wähnten scharf gegliederten Fadenverbänden zeigen. Dies beliebig wiederholt, tritt immer das Wachstum in der angegebenen Weise ein.

Nun wäre der geeignetste Weg zur Erkenntnis der fraglichen Formenbildung auf den mineralischen Nährlösungen die Beobachtung im hängenden Tropfen gewesen, aber die Feinheit des Organismus läßt solches nicht ausführbar erscheinen. Ich legte daher Plattenkulturen auf Nitritagar an, welche geimpft bei 22° und bei 37° beobachtet wurden. Es zeigte sich, daß bei 37° bereits am vierten Tage die Auswachsung von Fäden an dem einen Pole der Kurzstäbchen begann, während an dem entgegengesetzten eine Auswölbung entstand, wie solches auch auf der Abbildung, ebenso wie die verschiedenartige Färbung des Zellinneren, ersichtlich ist. Am 6. Tage trat auch bei 22° Auswachsen zu Fäden unter gleichen Erscheinungen ein.

Weiter aber ist von Interesse, daß auf dem festen Nährboden, also Nitritagar, nie Verzweigung der Fäden eintritt, sondern, daß solche nur in flüssiger Nährlösung neben unverzweigten Fäden zu finden ist und bei frisch angelegten Kulturen auch bereits in wenigen Tagen erscheint.

Nun ist die Frage, Organe welcher Art sind die Fäden? Geißeln können es nicht sein, da dem Bakterium die Eigenbewegung fehlt, es sich mit Karbolfuchsin, alkal. Methylenblau etc. leicht färbt und die Verzweigung der Fäden doch ganz gewiß nur als bewegungshindernd angesehen werden muß, während die Geißeln doch gerade als Bewegungsorgane aufzufassen sind. Dienen die Fäden als solche direkt zur Fortpflanzung, dann müßte wohl eine Gliederung in denselben sichtbar sein, doch könnte man auch annehmen, daß solche zwar vorhanden ist, es uns aber vorläufig noch nicht möglich ist, sie sichtbar zu machen. Dagegen lassen sich wohl die an dem oberen Ende der meisten Fäden sichtbaren Köpfchen als zur Fortpflanzung dienend ansehen, zeigt sich doch auch hier eine verschieden starke Färbung des Protoplasmas der Zellen, mögen wir diese Erscheinung nun als Polkörner oder Sporen auffassen. Ferner ist hervorzuheben, daß die gebildeten Fäden an ihrem Ende gleich stark wie am Anfange und auch die Gabelungsgebilde von gleichem Durchmesser sind.

Wahrscheinlich ist es wohl, daß die Fäden nebst Verzweigungen auch als Organe für Sauerstoffaufnahme dienen und damit zur Nitrifikation infolge ihrer Flächenausdehnung beitragen.

Es lag bei Beobachtung dieser neuen Form mit echten Verzweigungen die Vermutung nahe, daß solche in Beziehung zu *Oospora* resp. *Streptothrix* stehe. Allein die von mir verwendeten Reinkulturen von *Streptothrix dichotoma* und *odorifera* (infolge der von Flügge angegebenen neuen Benennung wird jetzt die bisherige *Cladothrix* mit echten Verzweigungen hierzu gerechnet) verhielten sich bei Ueberimpfen auf Nitritagar und mineralische Winogradsky-Lösungen so vollkommen verschieden in den Wuchsformen, daß ich einen Zusammenhang als ganz ausgeschlossen ansehen muß. Schon die makroskopische Besichtigung der Kolonien auf festem Nährboden zeigt uns völlig andere Bilder.

Die von Stutzer und Hartleb<sup>1)</sup> angeführte Beobachtung, daß in flüssigen Kulturen bei zunehmendem Alter und nachdem reichlichere Mengen von Nitrit in Nitrat verwandelt, auf der Oberfläche sich stets Schimmelpilz entwickle, habe ich bei meinen Kulturen, von denen mehrere aus dem Mai 1896 stammen, bis jetzt noch nicht bemerkt und haben doch einzelne derselben mehrfach erneute Zusätze von Ammonsulfat zur Nitrifikation erhalten. Auch auf den seit Oktober vorigen Jahres angelegten Nitratgarkulturen habe ich noch keinerlei derartige Verunreinigung gefunden; allerdings habe ich bis jetzt auch nur deutsche Erdproben untersucht. Es bildeten sich auf vielen meiner flüssigen Kulturen auf der Oberfläche mehr oder minder dichte Decken von Bakterienkolonien verschiedener Art, aber nie fand ich Schimmelpilze.

Hoffentlich gelingt es mir, noch weitere sich hieran schließende Beobachtungen bringen zu können.

München, 20. März 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Erreger der Reifung bei dem Emmenthaler Käse.

Vorläufige Mitteilung.

Von

**Dr. Ed. v. Freudenreich,**

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der Molkereischule Rütli bei Bern.

Wenn es auch feststeht, daß die sog. Reifung des Käses der Thätigkeit der im Käse vorhandenen Bakterien zu verdanken ist, so ist bis jetzt von keiner der im Käse gefundenen Bakterienarten mit Sicherheit nachgewiesen, daß sie wirklich die Ursache dieser Gärung sei. Zwar hat man lange geglaubt, daß die von Duclaux aus Cantalkäse isolierten sog. Tyrothrixarten dabei die Hauptrolle spielen. Es sind dieses Bacillenarten, welche die Gelatine verflüssigen, sehr widerstandsfähige Sporen bilden und wahrscheinlich zu der Familie der Heu- oder Kartoffelbacillen gehören. In Milch kultiviert, produzieren sie zunächst ein labartiges Ferment und rufen in der Folge sehr weitgehende Zersetzungen der Milch hervor (Bildung von Tyrosin, Ammoniak u. s. w.). Es ist daher sehr begreiflich, daß man diesen Bacillen bei der Reifung des Käses große Bedeutung beimaß. Jedoch zeigten weitergehende bakteriologische Analysen, daß dieselben in reifenden Käsen gegenüber anderen Bakterienarten in recht spärlicher Anzahl vorkommen. Ja, ich konnte nachweisen (Bd. I, p. 168 dieser Zeitschrift), daß diese Bacillen, selbst in ungeheuren Massen der verkästen Milch zugesetzt, sehr rasch aus dem Käse verschwinden.

Diese Versuche habe ich in jüngster Zeit wiederholt und das

1) Stutzer und Hartleb, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897. p. 55.

gleiche Resultat erhalten. So enthielt z. B. ein mit solchen Tyrothrixbacillen geimpfter Käse unmittelbar nach seiner Herstellung 700 000 Bacillen, nach 5 Tagen 200 000, nach 15 Tagen 50 000 und nach 4 Wochen nur noch 24 230, offenbar die Abkömmlinge der am Leben gebliebenen und im Käse ein latentes Leben führenden Sporen. Dagegen haben alle Forscher gefunden, daß die Milchsäurebakterien sich während der ganzen Reifungsperiode unglaublich im Käse vermehren. Als regelmäßigen Käsebewohner fand ich außer den genannten Bakterienarten nur noch einen in der Milch stets gegenwärtigen Micrococcus, der auch die Gelatine verflüssigt, aber bereits nach wenigen Tagen aus dem Käse verschwindet. Da ich zudem aus einer großen Anzahl von Versuchen, die seither mit dem gleichen Resultate wiederholt wurden, schließen konnte, daß der Zusatz von Milchsäurefermenten zu pasteurisierter Milch die Reifung der aus letzterer hergestellten Versuchskäse zu bewirken scheint, während die ungeimpften Käse aus pasteurisierter Milch schlecht oder gar nicht reifen, so glaubte ich die Vermutung aussprechen zu dürfen, daß die Milchsäurefermente wohl die Hauptrolle bei der Reifung des Emmenthaler Käses spielen, es müßte denn etwa eine anaërobe, bisher noch nicht kultivierte Bakterienspecies der Erreger dieser Gärung sein. Ich habe es daher auch versucht, solche anaërobe Arten aus dem Käse zu isolieren, aber abgesehen von wenigen Fällen, in denen ich einige Kolonien des *Bacillus oedematis maligni* erhielt, traf ich nur die gleichen Milchsäurefermente an, die fast alle sich auch anaërob sehr gut entwickeln.

Ich gebe nun zu, daß diese Hypothese, es seien die Milchsäurefermente die Hauptursache der Reifung des Käses, auf Schwierigkeiten stößt, denn bis jetzt weiß man nichts von einer Befähigung der Milchsäurefermente, das Eiweiß resp. das Kasein anzugreifen, und besteht doch die Reifung des Käses wesentlich in einer Zersetzung des Kaseins. Auch waren alle die bisherigen Versuche mit pasteurisierten Käsen in dieser Hinsicht noch nicht beweisend, da man z. B. gegenüber den Versuchen mit Zusatz von Milchsäurefermenten zu der Käsemasse immer einwenden kann, daß die gebrauchte Milch nicht steril war — sterilisierte Milch läßt sich bekanntlich nicht verkäsen — und daß daher nicht die zugesetzten Bakterien die spätere Reifung bedingt hätten, sondern etwa noch nicht kultivierte Bakterienarten.

Ich suchte daher den direkten Nachweis zu erbringen, daß das Kasein der Milch von den Milchsäurefermenten angegriffen wird. Wenn man aber Milch mit solchen Bakterien ohne weiteres impft, so bringt die gebildete Säure die Milch zum Gerinnen und verhindert nach ganz kurzer Zeit jedes weitere Wachstum der eingeimpften Bakterien, so daß weitere Zersetzungen nicht eintreten können. Vor allem muß daher die Säure neutralisiert werden; zu diesem Zwecke bewährte sich am besten ein Zusatz von Kreide. Anfänglich bediente ich mich gewöhnlicher Flaschen mit Bierverschluß; wenn aber der Verschluß nicht rechtzeitig von Zeit zu Zeit gelüftet wurde, um die Gase entweichen zu lassen — was übrigens öfters eine Infektion von außen zur Folge hatte —, so platzten mir die Flaschen. Mit Watte allein kann man auch die Flaschen nicht verschließen, weil sie beim täglichen Durch-

schütteln der Flaschen behufs Neutralisierung der Säure, zu leicht naß wird. Am besten ging es mit einem durchbohrten Kautschukstöpsel, welcher mit einem seitwärts gebogenem Glasrohre versehen war, so daß die in dem letzteren befindliche Watte beim Schütteln der Flasche von der Flüssigkeit nicht erreicht werden konnte. Die Kolben, die ca. 500 ccm Magermilch enthielten, wurden nun mit verschiedenen, aus Käse isolierten Bakterienarten geimpft, öfters durchgeschüttelt und nach 2—3 Monaten untersucht. Da es sich hier lediglich um Vorversuche handelte, so wurde von einer vollständigen, weitführenden chemischen Analyse abgesehen, und ich begnügte mich, auf einfachere Weise die in dieser Milch eingetretenen Veränderungen nachzuweisen. Bekanntlich befindet sich in der Milch der größte Teil des Kaseins nicht in Lösung, sondern im Zustande der Suspension. Wird daher gewöhnliche Milch durch ein Chamberland'sches Filter filtriert, so findet man im Filtrat nur einen Bruchteil, etwa  $\frac{1}{10}$  der ursprünglichen Eiweißstoffe der Milch wieder, indem nur die löslichen Eiweißstoffe durchgehen. Bei der Käsureifung wird nun zunächst ein Teil des Kaseins in lösliche Eiweißsubstanz übergeführt, und wenn man ein wässriges Käseextrakt herstellt und durch die Chamberland'sche Kerze filtriert, so findet man in dem Filtrat diese gelösten Eiweißstoffe wieder. Darauf beruht die von Duclaux bei seinen Käseanalysen befolgte Methode, indem er zur Feststellung des Reifungsgrades des Käses das Verhältnis zwischen dem Gesamteiweißstoffe und dem filtrierbar gewordenen Teile desselben bestimmt (sog. rapport de maturation). Wenn auch das Löslichwerden des Kaseins nicht den ganzen Reifungsprozeß ausmacht, sondern von weiteren Zersetzungen begleitet werden muß, so bildet es jedenfalls den Anfang und einen Hauptteil des ganzen Prozesses, wie auch spätere Untersuchungen (insbesondere Bondzynski, landw. Jahrbuch der Schweiz, Bd. VIII, p. 1894) zeigten. Statt nun, wie Duclaux bei seinen Käseanalysen, in einer bestimmten Portion das gesamte Eiweiß und den in einer gleichen Portion filtrierbar gewordenen Teil desselben zu ermitteln, was mehrere Trockenrückstands-, Asche- und Milchzuckerbestimmungen nötig macht und überhaupt in meinen Versuchen wegen der Gegenwart von milchsaurem Kalk schwer durchführbar war, begnügte ich mich, in dem Filtrat der mit diesen Bakterien geimpften Milch den Stickstoffgehalt zu bestimmen (nach Kjeldahl). War mehr Stickstoff in einem solchen Filtrat als im Filtrat einer gleichen bakterienfreien Milch enthalten, so mußte angenommen werden, daß ein Teil des Kaseins der Milch durch die Einwirkung der eingeimpften Bakterien löslich gemacht worden sei. Selbstverständlich wurde jedesmal vor der Analyse die Reinheit der Kulturen festgestellt.

Zwei Kolben waren mit einem ovalen Coccus, der oft als kurzes Stäbchen erscheint, geimpft, welches mir mit Leichmann's Bacillus der spontanen Milchsäuerung identisch zu sein scheint und welches häufig im Käse angetroffen wird; ein Kolben war mit einem aus einem reifenden Emmenthaler Käse isolierten Stäbchen geimpft; zwei fernere Kolben mit einem kurzen Bacillus, sehr ähnlich dem früher von mir aus Käsen isolierten Bacillus  $\alpha$ , vereint mit einem etwas



längeren Stäbchen, wahrscheinlich identisch mit dem von mir bei früheren Anlässen *Bacillus*  $\delta$  genannten Milchsäureferment. Alle diese Bakterien sind Milchsäurebildner und bringen meistens die Milch zur Gerinnung, am schnellsten der ovale Coccus. Ich werde diese 3 Kulturen A, B und C benennen.

Bei zwei Proben nicht geimpfter Magermilch gleicher Herkunft fand ich im Filtrat 0,034 und 0,031 Proz. Stickstoff, was einem Gehalt von 0,227 und 0,209 Proz. Albuminaten (durch Multiplikation mit dem von E. Schulze vorgeschlagenen Faktor 6,557) entsprechen würde.

Das Filtrat der Kulturen C dagegen enthielt im ersten Kolben 0,179 Proz. Stickstoff (= 1,178 Proz. Albuminate) und im zweiten Kolben 0,152 Proz. Stickstoff (= 0,996 Proz. Albuminate), also im Mittel 5,1 mal mehr Stickstoff resp. lösliche Eiweißsubstanz.

Im Filtrat der Kultur B fand ich 0,191 Proz. Stickstoff (= 1,255 Proz. Albuminate), d. h. ca. 6,4 mal mehr als in der Kontrollmilch.

Mit der Kultur A waren die Resultate etwas weniger günstig, 0,044 Proz. Stickstoff (= 0,289 Proz. Albuminate) im ersten Kolben und 0,111 Proz. Stickstoff (= 0,73 Proz. Albuminate) im zweiten Kolben, oder im Mittel 2,4 mal mehr als in der Kontrollmilch.

Die Reaktion war stets leicht alkalisch; die Farbe war in den Kulturen B und C bräunlich, in der Kultur A dagegen hellgelb, wie das Filtrat der Kontrollmilch. Geruch und Geschmack der geimpften Milchproben waren ganz eigentümlich und sehr verschieden von dem der Kontrollmilch; der Geruch speziell erinnerte etwas an Tyrosin.

Wie sind nun diese Versuche zu deuten? Sicher ist, daß in diesen Kulturen, besonders in den Kulturen B und C ein Teil des Kaseins in lösliche Eiweißsubstanz übergeführt worden ist. Sollte dieses etwa bloß der Einwirkung der gebildeten Milchsäure zuzuschreiben sein? Um diese Frage zu entscheiden versetzte ich Milch mit 0,5, 1 und 2 Proz. Milchsäure und untersuchte sie, nachdem sie einige Zeit bei 37° verblieben war, indem ich den Stickstoffgehalt des wie oben erhaltenen Filtrates bestimmte; derselbe betrug in der filtrierten Kontrollmilch 0,031 Proz. In der mit 2 Proz. Milchsäure versetzten Milch betrug der Stickstoffgehalt des Filtrates nach 5 Tagen 0,034 Proz. Die mit 1 Proz. Milchsäure versetzte Milch hatte nach 5 Wochen auch 0,034 Proz. Stickstoff im Filtrat, und die mit 0,5 Proz. versetzte Milch endlich, auch nach 5 Wochen filtriert, 0,027 Proz. Stickstoff. Wie man sieht, liegen hier die Differenzen innerhalb der zulässigen Fehlergrenzen. Ich glaube daher annehmen zu dürfen, daß die in meinen Versuchen konstatierte Lösung des Kaseins nicht etwa auf die bloße Einwirkung der gebildeten Milchsäure zurückzuführen ist. Daraus ergibt sich also, daß Milchsäurefermente fähig sind, das Kasein in lösliche Produkte überzuführen und dieses muß mit Rücksicht auf ihre so starke Vermehrung im reifenden Käse zu der Annahme führen, daß dieselben bei der Reifung des Käses sich hauptsächlich beteiligen, da der Reifungsprozeß gerade in der Ueberführung eines Teiles der Eiweißsubstanz in lösliche Produkte besteht. Meine früher ausgesprochene Vermutung, daß sie bei der Reifung des Käses eine

große, vielleicht sogar die alleinige Rolle spielen, gewinnt dadurch an Wahrscheinlichkeit. Ich bin mir freilich bewußt, daß die dargelegten Versuche nur als Vorversuche gelten können und es sind daher bereits weitere Experimente im Gange, die darüber volle Klarheit schaffen werden. Sollten dieselben die bisherigen Resultate bestätigen und erweitern, so brauche ich kaum auf die wichtigen Folgen hinzuweisen, die sich daraus für die Praxis ziehen ließen.

Am Schlusse möchte ich noch auf einen Punkt die Aufmerksamkeit richten; im reifenden Käse findet man nämlich ganz andere Milchsäurefermente als in der spontan gewonnenen Milch. Leichmann's Bacillus — meinen ovalen Kokkus — findet man zwar auch im Käse, aber daneben noch immer andere Stäbchenformen, und merkwürdigerweise scheint der erstere das Kasein am wenigsten anzugreifen und anderenteils bringen die Käsemilchsäurefermente oft eine weniger rasche und vollständige Milchgerinnung zu Stande. Vielleicht haben wir da eine besondere Klasse von Fermenten, die gerade infolge ihrer weniger intensiven Milchsäurebildung befähigt sind das Kasein zu zersetzen.

Bern, im März 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Der Salpeterpilz.

Von

A. Stutzer und R. Hartleb.

(Fortsetzung.)

c) Die *Zoogloea ramigera*. Eine häufiger vorkommende Form der Kolonien ist diejenige, welche man als *Zoogloea ramigera*<sup>1)</sup> bezeichnet. Diese geht in der Regel ursprünglich aus Sporangien hervor und hat ihre Form eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Thallus von Seetang. Ihr Wachstum dürfte vielleicht in folgender Weise zu erklären sein: Im Innern der jungen *Zoogloea* kommt es zu Kopulationsvorgängen, die neugebildeten Zellen wachsen, unter Erweiterung der *Zoogloea*-Membran, zu Schläuchen aus, die Schläuche bilden Sporen und geben zu einer weiteren Vermehrung durch Teilung Anlaß. In Präparaten von den frisch ausgewachsenen Aesten der *Zoogloea ramigera* findet man sowohl Kokken wie auch Schläuche mit Sporen, während der ältere Teil der Kolonie aus einheitlichen Organismen, nämlich meist nur aus Kokken, besteht.

Ueberträgt man die Hyphen des Pilzrasens in einen Nährboden von schwach alkalischem Asparaginagar, so erscheint die *Zoogloea ramigera* ziemlich schnell auf den Platten und halten wir in diesem Falle eine Entstehung aus Gliedern zerfallener Hyphen durch endogene Sporenbildung für wahrscheinlich.

1) Siehe Flagge, Bd. I. p. 68.

Die *Zoogloea ramigera* bildet sich auch, und zwar verhältnismäßig schnell, wenn man Teile von wasserhellen, stark lichtbrechenden Kolonien, welche auf schwach alkalischem Gelatinenährboden gefunden werden, auf alkalischen Peptonagar (oder Asparaginagar) überträgt. Enthält der benutzte feste Nährboden eine ungünstig wirkende Stickstoffverbindung, z. B. Harnstoff, so haben die aus Sporen oder Sporangien erzeugten Kolonien von der Form der *Zoogloea ramigera* meist scharf begrenzte Ränder und eine milchige oder opalisierende Farbe. Auf diesen Kolonien entstehen später die bereits erwähnten eigentümlichen kreideweißen Auflagerungen. Im allgemeinen sind in der *Zoogloea ramigera* die größeren Organismen, welche dem Nitritbildner von Winogradsky entsprechen, vorherrschend, und nur in alten Kolonien nähern sich die Formen denjenigen des Nitratbildners. Die größten Stäbchen hatten eine Länge von 1,2 und eine Breite von 0,8  $\mu$ . Die kleinsten eine solche von 0,5 bzw. 0,3  $\mu$ . Die Sporenschläuche waren 1,5—4  $\mu$  lang und 1  $\mu$  breit. Die Kokken besaßen eine sehr verschiedene Größe.

d) Die Kolonien auf Gelatine. Zur Herstellung des Gelatinenährbodens wurden 100 g Gelatine und 1 g Kaliumphosphat in Leitungswasser gelöst und die Lösung auf das Volumen eines Liters gebracht. Dieser Nährboden reagierte schwach sauer. Bei der Bereitung des neutralen Nährbodens wurde Soda bis zur völligen Neutralisation hinzugegeben.

Zur Impfung des Nährbodens benutzten wir eine Kolonie, welche vorzugsweise Kokken von ungefähr 2  $\mu$  Durchmesser enthielten. Auf der dicht besäten Platte des neutralen Nährbodens erschienen die Kolonien im durchfallenden Lichte als schmutzig graue Punkte, welche kaum die Größe eines Stecknadelkopfes hatten. Bei ungefähr 500-facher Vergrößerung waren die Tiefenkolonien dunkel grau und scharf umrandet. Das Innere der Kolonien ist gleichartig und nicht körnig. Gelangt eine solche Kolonie näher an die Oberfläche des Nährbodens, so grenzt sich der dunklere Teil von einem hellen Rande scharf ab. Der letztere erhält eine körnige Beschaffenheit und verflüssigt langsam die Gelatine. Tritt die Kolonie ganz an die Oberfläche, so ist der Rand nicht mehr scharf begrenzt und liegt in einer muldenförmigen Vertiefung des verflüssigten Nährbodens, der Inhalt der Kolonie schwärmt gewissermaßen nach dem Rande zu aus und hat der Inhalt nun das Ansehen von fein zerrissenen Wollfäden.

Ist die Verflüssigung der Gelatine vollendet, so besteht von der ursprünglichen Kolonie nur noch ein dunkler Rand. Im Innern schwimmen kleine Zoogloën, in denen ein körniger Inhalt zu sehen ist. Die Zoogloën treten über den Rand der Kolonie hinaus, indem nun weitere Teile des Nährbodens und schließlich die ganze Gelatinefläche in Flüssigkeit verwandelt wird.

Bei der Untersuchung des Inhaltes der Kolonie im hängenden Tropfen bemerkten wir Folgendes:

Große runde Kokken von 2  $\mu$  Durchmesser wie solche von Winogradsky als Nitritbildner beschrieben sind, befinden sich einzelne oder zu zweien in lebhaft rotierender Bewegung. Lange

schlauchartige Stäbchen, 2—4  $\mu$  lang und 1—2  $\mu$  breit, meist zu zweien zusammenhängend und mit endständigen Sporen versehen, wälzen sich durch die Flüssigkeit. Ferner kommen kleine Kokken von 0,6—1,0  $\mu$  Größe darin vor, welche meist bewegungslos sind.

Wir fanden also in der Gelatine Kokken des Nitritbildners und die daraus hervorgegangenen Sporenschläuche sowie mittelgroße Kokken, aber nicht diejenigen Formen, welche dem Nitratbildner eigen sind. Bei dem Reichtum des Nährbodens an organischen Stickstoffverbindungen wird die Bildung des letzteren voraussichtlich erst in einer späteren Periode erfolgen.

5) Megalosporen. Megalosporen sind im wesentlichen eine besondere Art von Kolonien. Sie entstehen wie diese vorzugsweise aus Konidien, bilden eine runde oder ovale, stark lichtbrechende, von einer gemeinsamen Membran umgebene Kugel, welche frei im Nährboden liegt.

Am häufigsten haben wir die Megalosporen auf schwach alkalischen Nitritagarplatten, seltener auf Asparaginagar (sauer) und in Flüssigkeiten, welche Asparagin enthielten, bemerkt. Ihre Größe ist sehr verschieden. Nicht selten hatten sie einen Durchmesser bis zu 15  $\mu$ ; es kommen jedoch auch wesentlich größere und erheblich kleinere Megalosporen vor. Auf einem Nährboden von saurem Peptonagar sahen wir solche bis zu einer Größe von 22  $\mu$  und in saurer Gelatine (mit Zusatz von Natriumnitrit) waren diese Gebilde bis zu 45  $\mu$  breit und 55  $\mu$  lang. Im flüssigen Nährboden erfolgt die Bildung der Megalosporen aus Oosporen oder aus Chlamydosporen oder aus den am Ende des Mycelfadens abgeschnürten großen Endsporen. Im Innern der Megalosporen findet eine Teilung und Vermehrung der vorhandenen Kokken statt, sie lagern hin und wieder polyedrisch oder in Sarcinaform sich zusammen, der Umfang der Megalosporen wird größer, bis schließlich die Membran platzt und kleinere und größere Kokken und Sporenschläuche sich aus ihr ergießen. Durch eine schleimartige Substanz werden die zunächst unbeweglichen Organismen zoogloeaartig zusammengehalten, bezw. an ihrer Bewegung gehindert. Indes tritt unter Schwindung des Schleimes sehr bald eine Bewegung ein, die Organismen schwärmen aus. Je nach dem Vorrat an Nährstoffen, den die schwärmenden Organismen vorfinden, können durch Teilung kleinere Gebilde (Mikrokokken und kleine Stäbchen des Nitratbildners), bald größere Kokken und Makrokokken sich daraus erzeugen. Auch kommen Kopulationsvorgänge vor.

Werden Megalosporen, wenn sie sich im schwärmenden Zustande befinden, in einen guten Nährboden, z. B. flüssigen Nährboden, welcher Asparagin enthält, übertragen, so bildet sich ein sehr feines Mycel mit dazwischen liegenden größeren Kokken. Das Mycel liegt dicht und zoogloeaartig beisammen, anscheinend wie in einer Schleimfülle. Nur diejenigen Megalosporen, welche eine Anlage zur Mycelbildung enthalten, erzeugen das Mycel. Hin und wieder ist in alten Kulturen der direkte Uebergang des Inhaltes der Megalosporen zur Form der kreideweißen Auflagerung beobachtet (z. B. auf Asparaginagar bei alkalischer Reaktion des Nährbodens).

6) Kokken, Sporenschläuche, Stäbchen. a) Kokken. Unter den Dauerformen, welche der Salpeterpilz erzeugt, treten beständig Kokken auf, die teils bei der endogenen Sporenbildung und beim Zerfall der Hyphen bzw. des Mycels, teils bei der geschlechtlichen Fortpflanzung oder bei der sehr mannigfaltigen Erzeugung von Fruchständen, neben anderen Dauerformen, gebildet werden. Ihre Größe ist außerordentlich verschieden. Wesentlich finden wir zwei Formen. Die eine hat einen Durchmesser von ungefähr  $2\ \mu$  (entsprechend Winogradsky's Nitritbildner) die andere von  $0,2\ \mu$ . Dazwischen existieren jedoch Formen von verschiedener Größe, welche durch Teilung und Vermehrung der größeren Kokken sich bilden, bevor solche bis zur kleinsten Gestalt gelangt sind.

Die Form der Kokken ist nicht immer eine völlig runde, sondern sie kann durch engere Zusammenlagerung benachbarter Kokken auch oval, polyedrisch oder bisweilen sarcinaartig sein.

Die Kokken pflanzen sich entweder durch Teilung als solche fort, oder sie wachsen zu Mycelfäden aus, falls eine Anlage hierzu vorhanden, oder es können Sporenschläuche daraus sich bilden.

Die Kokken sind teils beweglich und oft mit Cilien versehen, teils sind sie unbeweglich oder doch zeitweilig bewegungslos. Ist in Verbänden von Kokken (Zoogloen, Kolonien) durch Teilung eine starke Vermehrung eingetreten, so findet häufig ein Ausschwärmen der kleinen Kokken in benachbarte Teile des Nährbodens statt, sie wachsen hier unter günstigeren Ernährungsbedingungen aufs neue aus und vermehren sich.

b) Sporenschläuche und Stäbchen. Die Sporenschläuche, welche meist endständig an der Nähe eines jeden Poles kleine,  $0,2$  bis  $0,3\ \mu$  große Sporen enthalten, kommen nicht nur bei der endogenen Sporenbildung vor, sondern sie können auch aus Kokken und Stäbchen hervorgehen. Insbesondere beruht das Leben der kleinsten Dauerform des Salpeterpilzes in gewisser Hinsicht auf einem fortwährenden Wechsel zwischen Sporenschläuchen und Kokken. Letztere strecken sich zur Stäbchenform, bilden in ihrem Innern Sporen, die Membran des stäbchenförmigen Schlauches wird resorbiert und die Sporen in Freiheit gesetzt, um nun wieder zu Stäbchen auszuwachsen. Diese Stäbchen haben eine Länge von  $1,2\ \mu$  bei einem Durchmesser von  $0,2\ \mu$ .

Wir beobachteten sie in allen von uns benutzten Nährböden. Am schnellsten entstanden diese Stäbchen in saurer (nicht neutralisierter) Gelatine, wenn zur Impfung dieses Nährbodens die kleinste Stäbchenform gedient hatte. Desgleichen wurden sie aus der kreideweißen Auflagerung nach dessen Uebertragung in saure Gelatine sehr bald erzeugt.

Die bei der endogenen Sporenbildung entstehenden Schläuche sind zum Teil recht groß, namentlich in flüssigen Nährböden, in denen sie bei Gegenwart geeigneter Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen (z. B. Pepton, Asparagin) eine Länge bis zu  $10\ \mu$ , bei einer Breite von  $1$  bis  $2,5\ \mu$  nicht selten erreichen.

7) Betrachtungen über die Nitrifikationsmikroben von Winogradsky und ihre Beziehungen zu unserem

**Salpeterpilz.** Wir kommen nun zu einer Besprechung derjenigen Organismen, welche von S. Winogradsky als die Urheber der Nitrifikation beschrieben wurden und folgen wir den Angaben dieses Forschers in den *Comptes rendus*<sup>1)</sup>, in den *Annales de l'Institut Pasteur* 1890—1893, im *Centralbl. für Bakteriologie*. Abt. II. Bd. II. p. 415 und in den *Archives des sciences biologiques*, herausgegeben in Petersburg.

Einen Fadenpilz als höchstentwickelte Form des nitrifizierenden Organismus kennt Winogradsky nicht, sondern nimmt an, daß zwei wesentlich verschiedene Mikroben existieren, von denen die größere, kokkenähnliche Form die Eigenschaft besitzt, Ammoniak in Nitrit umzuwandeln, während ein anderer Organismus in Form kleiner Stäbchen die Ueberführung des Nitrits in Nitrat bedingt. Aus den Mitteilungen Winogradsky's geht hervor, daß beide Organismen verschieden sind. Demgemäß giebt Winogradsky diesen Mikroben auch verschiedene Namen. Nach seinen Annahmen giebt es bisher nur einen Nitratbildner (*Nitrobacter*), dagegen verschiedene Gattungen und Arten von Nitritbildnern und sagt W.: „*Les ferments nitreux du vieux monde feraient partie du genre Nitrosomonas avec deux espèces: N. europaea, N. javanensis (d'autres encore peut-être) et des variétés locales. Les microbes nitreux du nouveau monde feraient le genre Nitrosococcus.*“ Vergleichen wir mit den von uns gemachten zahlreichen Beobachtungen die Beschreibung dieser Organismen und die in der genannten französischen und russischen Zeitschrift enthaltenen vorzüglich guten Photographie, welche Mikroben aus den Erden von Zürich, Gennevilliers Kazan, Quito und Java in verschiedenen Zuständen darstellen, so kommen wir zu dem Schlusse, daß wir genau dieselben Organismen untersuchten, daß diese unter verschiedenen Ernährungsbedingungen gewachsene Formen unseres Salpeterpilzes sind, und die ganze Gruppierung der nitrifizierenden Mikroben Winogradsky's unhaltbar ist. Es existieren weder lokale Varietäten, noch besondere Arten von *Nitrosomonas*, man kann weder einen *Nitrosococcus* der alten Welt von einem *Nitrosomonas* der neuen Welt unterscheiden, sondern es geht die eine Form in die andere über. Es ist auch der *Nitrobacter* kein besonderer Organismus, sondern ebenfalls nur eine gewisse Dauerform unseres Salpeterpilzes, welcher in höchst organisiertem Zustande in die Gruppe der Fadenpilze gehört. Das von W. künstlich aufgeführte Gebäude, in welchem die verschiedenen Gattungen, Arten und Varietäten der nitrifizierenden Mikroben untergebracht waren, ist hinfällig geworden.

Als Beweise für diese Annahme dienen unsere gesamten, in diesem Bande des Centralblattes gebrachten Veröffentlichungen über den Salpeterpilz und wollen wir an dieser Stelle nur ganz kurz einige Beobachtungen Winogradsky's hervorheben.

**Kolonieen.** Die Form und die Farbe der Kolonieen des Nitratbildners, wie solche im 5. *Mémoire* und in den *Archives biologiques* für Kieselgallerte und im *Centralblatt für Bakteriologie* p. 456 für Nitrit-

1) C. R. T. CXIII. 1891. p. 89.

agar von W. beschrieben sind, stimmen genau mit denjenigen Kolonien überein, welche die Dauerformen unseres Salpeterpilzes in einer gewissen Entwicklungsstufe erzeugen.

W. spricht in seinen Arbeiten immer von der bei den Reinzuchtversuchen notwendigen Unterdrückung fremder Arten von Mikroben, die überall in lästiger Weise sich bemerkbar machen, von Schimmelpilzen, welche ihm die Kulturen verderben und wirft uns grobe Untersuchungsfehler vor, als wir fanden, daß unter Umständen der Salpeter erzeugende Organismus auch auf Gelatine wachsen kann. W. hat übersehen, daß die vermeintlichen Unreinlichkeiten und fremden Mikroben, welche bei der Züchtung von Kolonien auf festen Nährböden sich einstellten, nur Umwandlungsformen eines bestimmten Organismus sind, welche als Fadenpilz zur höchsten Stufe der Entwicklung gelangen.

**Nitritbildner.** Der Nitritbildner kann nach W. 2 Zustände annehmen, in dem einen lagern eine große Anzahl von Mikroben zu einer unbeweglichen Zoogloea sich zusammen (Dauerzustand), im anderen werden die Zellen der Zoogloea frei, es findet eine Zellteilung statt und schwärmen die Zellen nun als aktive Monaden (Kokken) aus, welche die Nährflüssigkeit auch bei ruhigem Stehen trübe machen. Die Zooglöen haben oft eine gemeinsame Membran. In Erde aus Quito und Campinas wurden besonders große Kokken ( $2\ \mu$ ) gefunden und solche als Megalokokken beschrieben.

Die Zooglöen Winogradsky's sind die auch von uns in flüssigen Kulturen regelmäßig gefundenen geschlossenen Sporangien, bezw. Zusammenlagerungen von Sporen unseres Salpeterpilzes, deren Bestandteile (Kokken) sich vermehren, ausschwärmen und später durch Kopulation wieder neue Zooglöen erzeugen können. Megalokokken von  $2\ \mu$  Durchmesser lassen sich bei geeigneter Ernährung aus einer jeden beliebigen Erde züchten und hat in dieser Hinsicht die Erde von Campinas und Quito keinen Vorzug vor irgend einer Erde anderer Herkunft.

Andererseits lassen die kleinen Kokken von Kasanerde, welche W. als eine lokale Varietät beschreibt, ebenfalls aus einer jeden Erde, unter angemessenen Ernährungsbedingungen, sich züchten. Ferner halten wir es für mindestens zweifelhaft, daß die Erden aus Nordafrika lokale Varietäten der europäischen Mikroben sind (siehe Arch. des sciences), indem alle von W. beschriebenen Unterschiede in der Größe und der Form dieser Kokken aus jeder beliebigen Erde sich züchten lassen.

W. kommt zu dem Schlusse: „On voit, d'après cette courte revue de tous les microbes nitreux que j'ai étudiés que l'opinion qu'on a paru se faire sur l'existence d'une espèce naturelle unique ayant fonction d'oxyder l'ammoniaque n'est pas soutenable.“ Dieser Ansicht müssen wir entschieden entgegenreten. W. hat den Pleomorphismus der nitrifizierenden Organismen nicht erkannt und liegt bisher kein Grund zu der Annahme vor, daß es verschiedene Arten dieser Organismen im Sinne von Winogradsky's giebt.

Hiermit ist nicht ausgeschlossen, daß Lebewesen anderer Art

existieren, welche ebenfalls den Uebergang von Stickstoff in organischer Verbindung zu Nitriten vermitteln.

**Nitratbildner.** W. nimmt an, daß es nur eine Art des Nitratbildners giebt, welcher die Form sehr kleiner Stäbchen hat. Wir stimmen ihm bei, jedoch besteht der große Unterschied mit unseren Anschauungen darin, daß W. den Nitrobacter als einen ganz besonderen Organismus betrachtet, während wir den Nachweis geliefert haben, daß dieser aus dem Nitritbildner hervorgeht und somit nicht die isolierte Stellung einnimmt, die W. ihm zuschreibt.

Wir werden später, im physiologischen Teile dieser Mitteilungen nochmals Anlaß haben, auf die Arbeiten Winogradsky's zurückzukommen.

8) Die Züchtung konstanter Formen von bakterienähnlichen Gebilden. Zur Erzielung der kleinsten Mikroorganismen, welche vom Fadenpilz sich ableiten, den Bakterien und Kokken ähnlich sind und wie diese sich fortpflanzen, geht man am besten von einer älteren, auf einem festen Nährboden gewachsenen Kolonie aus, in welcher durch fortgesetzte Teilung der darin enthaltenen Sporen die kleinste Form der Kokken sich bildete. Oder man nimmt kleine Teile von der sog. kreideweißen Auflagerung.

Sowohl auf festem wie auch im flüssigen Nährsubstrat kann man die kultivierten Organismen unter folgenden Bedingungen längere Zeit konstant halten:

- 1) Entziehung der Kohlenstoffquelle organischen Ursprungs und Ersatz des Kohlenstoffs in Form von Kohlensäure.
- 2) Zugabe von löslichen (alkalisch reagierenden) Karbonaten (Natrium- oder Kaliumkarbonat) oder mindestens von Calcium- und Magnesiumkarbonat, um etwa vorhandene Säuren zu neutralisieren.
- 3) Darreichung von Stickstoff in Form von Natrium- oder Kaliumnitrit und Ersatz der Nitrite, sobald diese zu Nitraten oxydiert sind.

Selbstverständlich empfiehlt es sich, von Zeit zu Zeit Uebertragungen in neue Nährböden von gleicher Zusammensetzung zu machen und Tochterkulturen anzulegen. Man gelangt auf diese Weise schließlich zu Organismen von kaum meßbarer Kleinheit.

9) Die Rückbildung der kleinsten Organismen zum Fadenpilz. Die Rückbildung erfolgt sehr leicht, wenn man den Organismen einen für Fadenpilze gut geeigneten Nährboden giebt, z. B. schwachsaure Gelatinegallerte, mit Zusatz geringer Mengen von Glycerin oder Asparagin. Erforderlich ist eine wiederholte Uebertragung der zunächst gebildeten Kolonien in ein gleiches Nährmedium, wie vorstehend angegeben wurde. Die zuerst aus den kleinen Stäbchen und Kokken sich bildenden Kolonien bleiben klein und erzeugen einen feinflockigen Thallus, welcher einem Sproßmycel ähnlich, aber hiermit nicht gleichbedeutend ist. Auf dem Mycel erzeugen sich geschlossene Mikrosporangien in reichlicher Menge, die bei weiteren Uebertragungen einen normalen Thallus des Fadenpilzes hervorbringen.

10) Pleomorphismus. Der Pleomorphismus von Organismen ist wohl seltener in so ausgesprochener Weise wie bei unserem Salpeterpilz beobachtet. Dieser Pleomorphismus erschwert die morpho-



logische Beschreibung und die Gruppierung des Pilzes im System so sehr, daß wir von der Anweisung des Salpeterpilzes an einer ganz bestimmten Stelle in der Gruppe der Fadenpilze vorläufig absehen und dies berufeneren Kräften überlassen möchten. — Wir fanden alle bisher bekannten Formen der Thallusbildung von Fadenpilzen und fast alle Fortpflanzungsvorgänge derselben. Ferner Gebilde nach Art der Streptotricheen und der Bakterien bis zu den kleinsten bisher bekannten Formen der Letzteren. Wir konnten den Fadenpilz in absteigender Richtung in Gebilde umformen, welche die Eigenschaft von Bakterien haben und aus den Bakterien wieder die höheren Formen von Schimmelpilzen erzeugen. In einer gewissen Entwicklungsperiode gelangten wir zu einem ganz anderen, in Wasser häufig vorkommenden Lebewesen, zur *Cladothrix*, also zu einer Fadenbakterie, und vermochten diese konstant weiter zu züchten. Andererseits konnten wir *Cladothrix*, welche aus einem beliebigen Brunnenwasser herstammte, durch die Gewöhnung an eine andere Nahrung in den Salpeterpilz umwandeln. Ein Generationswechsel war schon früher von Zopf und Flügge an *Cladothrix dichotoma*, *Leptothrix ochracea* und an *Bacterium Zopfii* festgestellt. Indes hat dies viele Forscher veranlaßt, die Wahrscheinlichkeit und die Möglichkeit des Pleomorphismus in Zweifel zu ziehen. Andere Autoren, die mit dieser Frage sich beschäftigten, besonders de Bary<sup>1)</sup> und später Winogradsky<sup>2)</sup>, führten den Zusammenhang der Spaltzpilzformen mit höher organisierten Pilzformen auf ein Mißverständnis zurück. Und wir müssen gestehen, daß wir an den Pleomorphismus des Salpeterpilzes nie gedacht haben würden, wenn unsere neuen Forschungen nicht mit zwingender Notwendigkeit uns hierauf hingewiesen hätten.

Winogradsky ist nach seinen Untersuchungen über die oben erwähnten Thallophyten zu folgender Ansicht gekommen:

Winogradsky sagt: „So war Zopf der Erste, dem es gelang, eine bei den arthrosporen Bakterien sehr verbreitete Reproduktionserscheinung, die Stäbchengonidien-Abgliederung an *Cladothrix dichotoma* zu beobachten und ist dieser Vorgang sehr leicht in allen *Cladothrix*-Kulturen zu bemerken. Von den anderen von Zopf beschriebenen mannigfaltigen Entwicklungsvorgängen kann ich ebenfalls bestätigen, daß manchmal eine deutliche Gliederung der Stäbchen, wenn sie noch in ihrem Fadenverbände sind, in je 4 bis 5 runde Körperchen, welche aus der gemeinsamen Scheide entleert worden, eintritt. Dagegen muß ich bestimmt in Abrede stellen, daß diese entleerten Kokken sich als solche vermehren können, eine Angabe, welche schon von Kurth<sup>3)</sup> in Zweifel gezogen wurde. Weder hieraus noch auf andere Weise werden von *Cladothrix* die zahlreichen Zoogloenformen gebildet, welche ihr von Zopf zugeschrieben worden sind. Die gemeinen baumförmigen oder lappigen Zoogloen, welche auf Zopf's Tafel III dargestellt sind, habe ich

1) A. de Bary, Vorlesungen über Bakterien. p. 564.

2) Winogradsky, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. Heft 1.

3) Bact. Zopfii, Botan. Ztg. 1883.

monatelang in meinen Kulturen beobachtet, ohne jemals ihre Entstehung aus *Cladothrix* oder umgekehrt die der *Cladothrix* aus ihnen nachweisen zu können.“ —

Vorstehende Ansicht Winogradsky's führen wir an dieser Stelle an, da dieselbe in ähnlicher Form als spätere Erwiderung uns vielleicht entgegengestellt werden könnte. Unsere Beobachtungen sind ähnlich wie die Zopf'schen, nur mit dem Unterschiede, daß es uns zweifellos gelungen ist, die Ueberführung der einen in die andere Form nachzuweisen.

### III. Die Physiologie des Salpeterpilzes.

1. Die Wirkung der Kohlenstoffverbindungen. Bezüglich der Ernährung des Salpeterpilzes mit Kohlenstoff enthaltenden Materialien war die Aufnahme von organischen Kohlenstoffverbindungen, wie solche von anderen Pilzen verwertet werden, fast selbstverständlich, solange der Organismus die Eigenschaft eines Fadenpilzes hat. Wir haben bestätigt gefunden, daß unser Salpeterpilz in dieser Entwicklungsperiode von den Schimmelpilzen sich nicht unterscheidet. Von größerer Wichtigkeit ist die Frage, ob der Salpeterpilz im nitrifizierenden Zustande — also in Form von Kokken und Sporenschläuchen — die organischen Kohlenstoffverbindungen, oder die freie Kohlensäure, oder die gebundene Kohlensäure (Calciumkarbonat, Magnesiumkarbonat u. s. w.) als Kohlenstoffquelle verwenden kann. S. Winogradsky nahm an, daß die Karbonate zersetzt werden und sagt dieser Forscher<sup>1)</sup>: „Die Zersetzung der Erdalkalikkarbonate geschieht kaum bei einem anderen Prozesse in solchem Umfange, wie bei der Nitrifikation. Enorme Mengen von Kohlensäure werden durch die Thätigkeit der Nitrobakterien in Freiheit gesetzt . . . .“ — Später sind von E. Godlewski experimentelle Untersuchungen über diese Frage ausgeführt<sup>2)</sup> und kommt derselbe zu dem Ergebnis, daß die nitrifizierenden Bakterien nur die freie Kohlensäure, bezw. die halbgebundene Kohlensäure der Bikarbonate verwerten, dagegen die fest gebundene  $\text{CO}_2$  der Monokarbonate nicht angreifen.

Die Befunde des einen der genannten Forscher schließen die Annahmen des anderen nicht aus, und muß es als wahrscheinlich erscheinen, daß bei der Nitritbildung die erzeugte Säure eine Zersetzung etwa vorhandener Karbonate bewirkt und die  $\text{CO}_2$  der letzteren Verbindungen als Material zur Deckung des Kohlenstoffbedarfes verwendet werden kann. Godlewski fand bei der Beendigung seiner in geschlossenen Gefäßen vorgenommenen Versuche eine erhebliche Vermehrung der in der Luft befindlichen  $\text{CO}_2$ , welche nur aus  $\text{MgCO}_3$  herkommen konnte. Aus den Versuchen von Godlewski geht ferner hervor, daß ein gewisser Vorrat an freier Kohlensäure zur Einleitung der Nitrifikation und somit auch zur Zersetzung von Karbonaten den Organismen zur Verfügung stehen muß und bei Ab-

1) Berichte der Züricher naturf. Ges. 1891. p. 207.

2) Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau. 1892. p. 411 u. 1895. p. 178. Siehe auch Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 1896. p. 461.

wesenheit organischer Kohlenstoffverbindungen die Gegenwart von freier Kohlensäure gewissermaßen eine Vorbedingung zur Nitrifikation ist. Schließt man dauernd die freie Kohlensäure ab, so kommt es, wie die Versuche von Godlewski ergaben, zu keiner Erzeugung von Nitrit oder Nitrat. Selbstverständlich hat die Tatsache nur dann Gültigkeit, wenn man irgendwelche organische Kohlenstoffverbindungen vollständig ausschließt.

Wir haben über die Ernährung der nitrifizierenden Organismen mit Kohlenstoffverbindungen folgende Versuche gemacht: Allgemeine Versuchsbedingungen. In einen Erlenmeyer-Kolben wurden 200 ccm einer Flüssigkeit gegossen, welche im Liter enthielt: 1 g Kaliumphosphat, 1 g Chlornatrium, 0,5 g Magnesiumsulfat, 0,1 g Chlorkalium. Die Flüssigkeit ist sterilisiert und wurden dann 5 ccm einer vorher sterilisierten Lösung von Natriumnitrit (2 g in 100 ccm Wasser gelöst) zu den 200 ccm der Salzlösung hinzugesetzt. Zu den Versuchen diente die kleinste, auf Nitritagar nach den Vorschriften von Winogradsky gezüchtete Form des Nitratbildners, welche als Strichkultur vorrätig und völlig rein war. Mittels einer Platinöse wurde die Strichkultur abgekratzt, die Organismen in einen Kolben gebracht, welcher 100 ccm steriles Wasser enthielt. Die Bakterien sind durch kräftiges Schütteln möglichst gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilt und hiervon je 15 ccm der Flüssigkeit mit 200 ccm der Nährlösung vereinigt. Diese Versuche wurden in Erlenmeyer-Kolben von ungefähr  $\frac{1}{2}$  l Rauminhalt ausgeführt, welche mittels doppelt durchbohrter Gummistopfen geschlossen waren und hierin Glasröhren zum Durchleiten von atmosphärischer Luft eingefügt. Das Durchleiten der Luft erfolgte ununterbrochen und im langsamen Strome unter Benutzung von Wasserstrahlpumpen. In den Fällen, in welchen eine von  $\text{CO}_2$  freie Luft verwendet werden sollte, wurde letztere zuvor durch Cylinder geleitet, in denen eine 10 ccm hohe Schicht von konzentrierter Natronlauge sich befand. Desgleichen passierte bei diesen Versuchen die austretende Luft ebenfalls eine hohe Schicht von Natronlauge. Die Temperatur war während der Versuche  $20^\circ \text{C}$ .

Versuch 1. Die eintretende Luft ist nur durch hinreichende Mengen von sterilisierter Watte geleitet und von Kohlensäure nicht befreit. Nach Verlauf von 10 Tagen ergab die Prüfung keine Nitrit-, aber eine starke Nitratreaktion. Nun sind 10 ccm einer sterilisierten 2-proz. Nitritlösung neu hinzugesetzt. Nach 5 Tagen tritt keine Nitritreaktion mehr ein. In gleicher Weise stellte sich nach wiederholtem Zusatze von Nitrit die Umwandlung dieser Verbindung in Nitrat regelmäßig in 4–5 Tagen ein.

Versuch 2. Dieser Versuch ist in gleicher Weise wie Versuch 1 ausgeführt, jedoch wurde die hinzutretende Luft von  $\text{CO}_2$  vollständig befreit. Das Nitrit ist nach Verlauf von einigen Monaten unverändert in gleicher Stärke nachweisbar.

Versuch 3. Bei diesem Versuche verwendeten wir einen Zusatz von 2 g präcipitiertem und sterilisiertem kohlen-sauren Kalk. Die durchgeleitete Luft war frei von  $\text{CO}_2$ . Nach Verlauf mehrerer Wochen, während welcher Zeit in der Flüssigkeit des Versuches 1

wiederholte Zusätze von Nitrit erforderlich gewesen waren, ist keine Veränderung eingetreten; das Nitrit war bei Versuch 3 in Nitrat nicht verwandelt.

Versuch 4. Statt des  $\text{CaCO}_3$  wird ein Gemenge gleicher Teile  $\text{CaCO}_3$  und  $\text{MgCO}_3$  genommen und Luft hindurchgeleitet, ohne diese von Kohlensäure zu befreien. Die Salpeterbildung erfolgt in ungestörter Weise.

Versuch 5. Es wird ein Zusatz von 0,5 g sterilisiertem, calciniertem Natriumkarbonat gegeben. Die durchgeleitete Luft ist von  $\text{CO}_2$  befreit. Die Flüssigkeit wird am 8. Tage geprüft. Es war jetzt nur noch Nitrat vorhanden. Nach weiteren Zusätzen von Nitrit verlief die Nitrifikation in gleicher Weise.

(Schluß folgt.)

---

*Nachdruck verboten.*

## Zur Charakteristik des Weizenbraunrostes.

Von

Prof. Dr. Jakob Eriksson

in

Stockholm.

Mit 1 Figur.

In einer früher mitgeteilten Beschreibung derjenigen Art von Getreiderost, die der Braunrost (*Puccinia dispersa* Eriks. et Hen.) benannt worden ist, und die auf Roggen und Weizen sowie auf mehreren Wiesengrasarten auftritt, wurde angegeben, daß dieser Rost nur die Spreiten der Blätter befallt, wenigstens, wenn es die beiden Getreidearten gilt<sup>1)</sup>. Es sei schon aus diesem Grunde, besonders gegenüber dem Weizen, für weniger gefährlich, als der Gelbrost (*P. glumarum* [Schm.] Eriks. et Hen.) zu halten, da dieser alle Pflanzenteile heimsucht und in gewissen Jahren, den sog. Gelbrostjahren, besonders die Körner, die dabei für den Handel untauglich werden, sehr hart befällt.

Diese Auffassung von dem Auftreten des Pilzes auf Roggen und Weizen gründete sich auf Beobachtungen im Experimentalfeld, gelegentlich aber auch an anderen Orten des Landes, in den Jahren 1890—95. Eigentümlicherweise hat es sich jedoch in dem letztverwichenen Jahre (1896) herausgestellt, daß diese Rostart auch anders auftreten kann. Sie zeigte sich nämlich jetzt auf dem Weizen besonders häufig und kräftig, nicht nur, wie in den früheren Jahren, an den Spreiten der Blätter, sondern auch als *Puccinia* an ihren Scheiden, allerdings nicht an allen, aber doch an einer großen Zahl

---

1) J. Eriksson und E. Henning, Die Getreideroste, ihre Geschichte und Natur, sowie Maßregeln gegen dieselben. Stockholm 1896. p. 210. 236—237.

der auf dem Experimentalfältet angebauten Weizensorten. Sie trat also in einer Weise auf, die an diejenige sehr erinnert, in welcher der Gelbrost gewöhnlich an den gelbrostempfindlichsten Weizensorten fast alljährlich auftritt.

Eine braunrostbefallene Blattscheide zeigt mit einer gelbrostbefallenen recht große Aehnlichkeit. Doch sind sie voneinander dadurch leicht zu unterscheiden, daß die Braunrostflecken, wie aus den beigegebenen Abbildungen hervorgeht, größer, zerstreuter und weniger reihenweise geordnet sind, als die entsprechenden des Gelbrostes (vergl. Fig. *a* und *b*).



Zwei rostige Weizenhalmstücke, der eine (*a*) von Gelbrost (*P. glumarum*), der andere (*b*) von Braunrost (*P. dispersa*) befallen; beide im Pucciniastadium (5/1).

Worauf wird wohl diese dem Jahre 1896 eigentümliche Entwicklung des Braunrostes zurückzuführen sein? Auf die Lage oder die Natur des Ackers, auf die Beschaffenheit der angebauten Weizensorten, auf die Zeit und die Art des Säens oder dergl.? Hierin kann man sicher nicht die Ursache suchen, da diese Faktoren sämtlich in den vorhergehenden Jahren ganz dieselben waren. Zur Aufklärung des eigentümlichen Phänomens bleibt uns nichts als eine vielleicht verschiedene Witterung übrig.

Unter den Momenten der Witterung müssen wir hier in erster Reihe auf die Temperatur und den Regen Bedacht nehmen. Was die Temperatur des vergangenen Vorsommers (1896) betrifft, so wird man sich wohl gut erinnern, wie außerordentlich hoch dieselbe war. Eine wochenlang fast tropisch drückende Hitze ließ ja manchen glauben, er wäre in eine südlichere Breite versetzt worden.

Sieht man näher nach, wie sich die Temperaturziffern derselben Jahreszeit in den 7 letzten Jahren verhalten, d. h. seit der Zeit (1890), da der Braunrost als besondere Rostart hier zuerst ausgeschieden und in seinem jährlichen Auftreten zuerst einigermaßen genau verfolgt worden ist, so findet man auch auffallende Thatsachen. Bei der Betrachtung der Monate Mai, Juni und

Juli, d. h. der Monate, die in der hier vorliegenden Hinsicht vorzugsweise einwirken, so findet man die in untenstehender Tabelle I gezeigten Verhältnisse. In dieser Tabelle sind die Temperaturmaxima teils für jede Dekade (Periode von 10 Tagen), teils für den ganzen Monat summiert.

## Die Summe der Temperaturmaxima am Experimentalfältet.

Tabelle I.

Jahr	Mai				Juni				Juli			
	Dekade			Summe	Dekade			Summe	Dekade			Summe
	1	2	3		1	2	3		1	2	3	
	(1—10)	(11—20)	(21—31)		(1—10)	(11—20)	(21—30)		(1—10)	(11—20)	(21—31)	
	°C	°C	°C	°C	°C	°C	°C	°C	°C	°C	°C	°C
1890	189,0	206,0	167,5	562,5	188,0	183,0	214,5	585,5	194,0	208,5	234,0	636,5
1891	136,0	150,0	213,5	499,5	146,5	179,5	275,0	601,0	234,0	258,0	258,0	750,0
1892	118,0	136,0	205,5	454,5	226,0	171,0	188,0	485,5	203,0	184,0	281,0	668,0
1893	87,5	138,5	163,5	389,5	182,5	220,5	192,5	595,5	235,5	225,0	235,5	696,0
1894	147,5	173,0	135,5	456,0	138,5	200,0	218,0	556,5	245,5	201,5	253,5	700,5
1895	194,5	176,0	209,5	580,0	222,5	207,0	210,0	639,5	219,5	195,0	215,5	630,0
1896	128,5	110,0	185,0	423,5	242,0	261,0	206,5	709,5	230,5	260,5	255,0	746,0

Man findet also, daß sich im Jahre 1896 der Monat Mai von demselben Monate der vorigen 6 Jahre weder durch eine sonderlich hohe, noch durch eine sonderlich niedrige Wärme auszeichnet, sondern durchaus Mittelzahlen zeigt, sowohl für die Dekaden, als auch für den Monat im ganzen.

Anders liegt die Sache für den Monat Juni. Sowohl die erste als auch die zweite Dekade zeigen hier besonders hohe Maxima. Gegen eine Mittelzahl für die erste Dekade aus den 6 ersten Jahren von 184 kommt aus dem Jahre 1896 die Ziffer 242, und gegen eine Mittelzahl aus jenen Jahren für die zweite Dekade von 193,6 kommt für dieselbe Zeit des Jahres 1896 die Ziffer 261. Die Ziffer der dritten Dekade für dieses Jahr wird aber von derjenigen der früheren Jahre übertroffen. Die Ueberschüsse der zwei ersten Dekaden bilden jedoch zusammen die Ziffer 709,5 für das Jahr 1896 gegen eine Mittelziffer 577,3 für die 6 vorhergehenden Jahre.

Wendet man sich endlich zu dem Monat Juli, so findet man auch hier während der zweiten Dekade eine Ziffer, die höher ist, als die entsprechenden der früheren Jahre. Der Unterschied ist jedoch hier nicht so groß, wie in den beiden ersten Junidekaden, und die Summe für den ganzen Monat steigt nicht über die der vorigen Jahre, wohl aber ziemlich über die Mittelzahl dieser Jahre.

Man kann aus dem Angeführten, wie es mir scheint, mit einem hohen Grade von Gewißheit den Schluß ziehen, es müsse die auffallend hohe Hitze der beiden ersten Junidekaden die Ursache davon gewesen sein, daß im verflossenen Jahre der Weizenbraunrost zu einer hier nicht früher gesehenen Entwicklung getrieben wurde, eine Entwicklung, die man sich als die in südlicheren Gegenden normale denken kann.

Außerdem kann man aus dem Angeführten schließen, daß es nicht gleichgiltig ist, in welche Zeit des Frühjahrs oder des Vorsommers eine zufällige trockene Hitze fällt. Die Tabelle zeigt, daß im Jahre 1895 eine entsprechende Hitzeperiode in die 2 ersten Dekaden des Mai fiel, ohne daß daraus eine ungewöhnliche Entwicklung des Braunrostes die Folge war.

Mit der seltenen Hitze im Anfange des Monats Juni geht, was ja ganz natürlich ist, eine besonders niedrige Niederschlagsmenge Hand in Hand. Diese war, wie die Tabelle II zeigt, geringer, als in der entsprechenden Periode sämtlicher vorhergehender Jahre.

Die Niederschlagssumme am Experimentalfältet.

Tabelle II.

Jahr	Mai				Juni				Juli			
	Dekade			Summe	Dekade			Summe	Dekade			Summe
	1	2	3		1	2	3		1	2	3	
	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
1890	0	0,1	107,7	107,8	16,3	16,0	6,6	38,9	49,0	19,3	2,9	71,2
1891	14,0	23,5	19,4	56,9	1,8	5,6	1,0	8,4	15,6	0,5	25,9	42,0
1892	12,6	15,4	5,9	33,9	4,5	12,5	29,6	46,6	18,8	23,1	5,9	47,8
1893	0	2,3	18,4	20,7	6,7	8,7	28,4	43,8	8,3	12,1	19,1	39,5
1894	16,3	9,6	24,6	50,5	33,5	8,8	16,5	58,8	2,5	52,4	18,4	73,3
1895	0,8	5,4	11,8	18,0	2,7	4,2	19,4	26,3	11,0	69,2	19,4	99,6
1896	8,4	11,0	7,6	27,0	0,3	0,5	29,9	26,7	9,2	12,7	23,9	45,8

Man wird vielleicht fragen, wie sich die Verhältnisse an anderen Stellen in Nord-Europa, welche dieselbe Hitze und Dürre hatten, gestaltet haben, und ob auch an jenen Stellen eine ähnliche Ausbildung des Weizenbraunrostes beobachtet worden ist. Ich bin imstande, hier mitteilen zu können, daß ich im vergangenen Herbst das Vergnügen hatte, von Prof. C. B. Plowright in King's Lynn (England) und von dem Staatsentomologen M. W. Schöyen in Christiania an den resp. Orten eingesammelte Weizenhälme zu erhalten, die auf ganz dieselbe Weise wie bei Stockholm befallen waren. Es ist daher wohl anzunehmen, daß das Auftreten des Pilzes im ganzen nördlichen Europa dasselbe wie in Schweden gewesen ist.

Eine andere nicht weniger beachtenswerte Eigentümlichkeit im Auftreten des Braunrostes am Experimentalfältet im Sommer 1896 war die, daß die Krankheit an den verschiedenen Weizensorten mit verschiedener Stärke auftrat, was vermuten läßt, daß vielleicht den einzelnen Weizensorten auch für diese Rostart eine verschiedene innere Empfänglichkeit zukommt, die man aber bisher nicht hat konstatieren können<sup>1)</sup>.

Bei einer Untersuchung des Weizenversuchsfeldes am 27. Juli konnte man in betreff der Intensität des Braunrostes folgende drei Weizenklassen unterscheiden:

#### Klasse I.

Die Sorten fast rein von Braunrost, wenigstens an den Scheiden.

Ex.: Graf Walderdorff'scher regenerierter (40)<sup>2)</sup>, Scoley's Squarehead (50), Kinver Squarehead, Blé à épi carré u. a., der-

1) J. Eriksson und E. Henning, a. a. O. p. 340, 350.

2) Die in Klammern gestellten Ziffern beziehen sich auf die Nummer, worunter die betreffende Weizensorte bei J. Eriksson, Beiträge zur Systematik des kultivierten Weizens. (Landw. Versuchsstat. Bd. XLV. 1894) beschrieben worden sind.

jenigen Sorten, z. B. Horsford's Perlweizen (71) und Michigan-Bronze (102) zu geschweigen, welche für den Gelbrost am meisten empfänglich sind und infolgedessen schon vorher so zerstört waren, daß der etwas später auftretende Braunrost bei seiner Ankunft keinen Boden mehr zum Gedeihen fand.

### Klasse II.

Die Sorten mäßig angegriffen, der Rostigkeitsgrad des Halmes 1—2 (= Spuren von bis spärlicher Rost).

Ex.: Urtoba (30), Victoria d'Automne (33), Hybrid (39), Akklimatisierter schottischer (43), Squarehead (50), Weißer australischer (56), Browick (82), Banater Grannenweizen (87), Ultuna rotähriger Bartweizen (99) u. a.

### Klasse III.

Die Sorten schwer befallen, der Rostigkeitsgrad des Halmes 3—4 (= recht vieler bis vieler Rost).

Ex.: Frankensteiner (9), Manchester (36), Grevenhagener (47), Shireff's Squarehead (50), Hickling (51), Bloodred (73), Red chaff Dautzick (78), Beseler's brauner Dickkopf (79), Ungarischer weißer (89), Weißer Kolbenspelz u. a., also viele der Weizensorten, die dem Gelbroste am besten widerstehen.

Im allgemeinen kam auf diesen zuletzt aufgezählten Weizensorten das Pucciniastadium des Pilzes, sowohl an den Spreiten wie an den Scheiden der Blätter, reichlich vor. Dies war jedoch nicht stets der Fall. Zwischen den einzelnen Weizensorten zeigte sich eine auffallende Verschiedenheit, und dieses führte zu einer detaillierten Untersuchung einiger extremen Sorten.

Eine dieser genauer untersuchten Sorten war der Kaiser-Weizen. Etwa 50 Halme wurden untersucht und zwar mit dem Resultate, daß an den allermeisten derselben die 2(—3) obersten Blätter an den Scheiden äußerst reich mit Pucciniaflecken besetzt waren. Der Rostigkeitsgrad dieser Blätter mußte auf 4 geschätzt werden. Eigentümlicherweise wurde aber kaum an einer einzigen Scheide ein Flecken mit der Puccinia des Braunrostes entdeckt, nur in einigen einzelnen Fällen ein paar Streifen des entsprechenden Stadiums des Gelbrostes. Die Scheiden konnten also, praktisch gesehen, für rein gehalten werden. Bemerkenswert war ferner, daß die 2(—)3 untersten Blätter der Halme, auch da, wo die 2(—3) obersten Blätter reichlich Puccinia trugen, meistens von Puccinia so gut wie ganz rein waren.

Ganz anders fiel die Untersuchung einer anderen Weizensorte, Grevenhagener-Weizen, aus. Etwa 100 Halme wurden hier durchgesehen. Freilich kam Puccinia an den Blättern, besonders an den obersten, ungefähr in gleichem Maße vor, wie bei dem Kaiser-Weizen. Einen großen Unterschied aber zeigten die Scheiden, von denen die 2—3 oberen Pucciniaflecken in solcher Menge trugen, daß der Rostigkeitsgrad hier auf 3 oder fast 4 angesetzt werden mußte. Am rostigsten war die oberste Scheide; an den untersten 2—3 Scheiden waren wenige, ja fast gar keine Rostflecken zu finden.



Wie soll die jetzt geschilderte eigentümliche Thatsache, daß es bei beiden Weizensorten vorzugsweise oder fast ausschließlich die obersten Teile des Halmes waren, welche reichliche Puccinia trugen, sowie auch der Unterschied in dem Verhalten der Sorten, daß bei dem Kaiserweizen nur die Spreiten der Blätter, bei dem Grevenhagener Weizen aber zugleich die Scheiden rostig waren — wie soll dies erklärt werden?

Hat man, wie hier oben angenommen worden ist, die Ursache der außerordentlichen Entwicklung des Weizenbraunrostes im vergangenen Jahre in der starken Hitze und Dürre der beiden ersten Junidekaden zu suchen, so läßt es sich auch gut erklären, daß das Phänomen an den oberen Teilen des Halmes hervortritt, daß eben diese Teile diejenigen waren, in welchen die Lebensfähigkeit mit größter Energie stattfand. Es wurde nämlich notiert, daß die Ähren der Weizensorten in der Regel am 22. Juni hervorgetreten waren. In den 3 ersten Wochen des Juni, der heißen und trockenen Periode, waren es also eben die 2—3 letzten Blätter des Halmes, die vorzugsweise wuchsen, während dagegen die untersten Blätter schon zu dieser Zeit ihr Wachstum, sowie ihre physiologische Rolle wesentlich vollendet hatten und sich im Aussterben befanden. Wenn ein neuhinzutretender Faktor irgendwelche sichtbaren Wirkungen hervorrufen könne, so dürfte es gerade dort sein, wo die Umsetzung am lebhaftesten vorging und das Gewebe also auch für die äußeren Einflüsse der Witterung am empfänglichsten sein mußte.

Früher ausgeführte Detailuntersuchungen über die absolute Wachstumsdauer jedes einzelnen Blattes, sowie über den successiven Zuwachs sämtlicher Blätter eines Halmes, haben gezeigt, daß das Längenwachstum des einzelnen Blattes nicht länger als 10—13 Tage währt, daß etwa die letzte Hälfte der Zuwachsdauer des einen Blattes mit der ersten Hälfte des Zuwachses des nächsten zusammenfällt, und daß in den oberen Blättern des Halmes die Neubildung hauptsächlich in der Scheide stattfindet und hier auch am längsten andauert<sup>1)</sup>. Wir müssen also alle etwaige Wirkungen der hohen Hitze und Dürre gerade in den 2—3 obersten Blättern erwarten, und zwar besonders an ihren Scheiden. Thatsächlich haben wir ja auch dort diese Eigentümlichkeiten gefunden.

Wie aber sollen wir denn die Verschiedenheit der beiden in Details untersuchten Weizensorten erklären, daß der Kaiser-Weizen Pucciniaflecken nur an den Blattspreiten trug, der Grevenhagener-Weizen aber zugleich auch an den Blattscheiden?

Um diese Verschiedenheit zu erklären, müssen wir uns denken, daß für den Braunrostpilz dieselben Gesetze gelten, welche früher als die wahrscheinlichen, wenn nicht die wahren, für mehrere andere Rostpilzarten angegeben worden sind, wie für den Schwarzrostpilz (*Puccinia graminis*)<sup>2)</sup>, für den Kiefernblasenrostpilz (*Perider-*

1) J. Eriksson und E. Henning, a. a. O., p. 84, 98—99. Taf. II. Fig. 14—16.

2) J. Eriksson, Neue Untersuchungen über die Spezialisierung, Verbreitung und Herkunft des Schwarzrostes. (Pringsh. Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. XXIX, 1896. p. 521 ff.)

mium pini)<sup>1)</sup>, für den Gelbrost (*Puccinia glumarum*)<sup>2)</sup> u. a., daß nämlich die Quelle, aus der die Krankheit entsteht, eine zweifache sein kann, und zwar teils ein der Pflanze innewohnender, aus dem Saatkorne stammender oder bei dessen Keimung in die zarte Keimpflanze eingedrungener Krankheitskeim, teils aber auch Uredosporen, die während der Blütezeit des Pilzes von außen hereingekommen sind.

Wir müßten uns ferner denken, daß die beiden besprochenen Weizensorten sich gerade in betreff der genannten Herkunft der Krankheit verschieden verhalten, und zwar so, daß bei dem Grevenhagener-Weizen ein innerer Krankheitsstoff vorhanden sei, während bei dem Kaiser-Weizen es an einem solchen nahezu oder vollständig fehlt. Wir werden dann auch leicht fassen können, weshalb die Scheide des Grevenhagener-Weizens mit ihrem inneren Krankheitsstoff von den abnormen Witterungsverhältnissen des letzten Jahres einen weit kräftigen Einfluß erfahren hat, als die des Kaiser-Weizens, die keinen solchen Krankheitsstoff hatte, sondern nur auf die äußeren Ansteckungsstoffe als Krankheitsquelle hingewiesen gewesen ist. Und daß die Blattspreite an und für sich eine dienlichere Unterlage der durch die Luft verbreiteten Sporen darbieten muß, als die Scheide, kann man wohl für mehr als wahrscheinlich halten, da in den früheren Jahren kein einziges Mal ein Rostfleck dieses Pilzes an der Scheide beobachtet worden ist, obgleich die Sommersporen jedes Jahr in größter Menge vorkamen und diese Sporen in der Regel sehr gut keimten.

Inwieweit die oben ausgesprochenen Vermutungen einer verschiedenen Empfänglichkeit der einzelnen Weizensorten für den Braunrost richtig sind oder nicht, dürfte man wohl in südlicheren Ländern, wo doch die Form wohl ihre eigentliche Heimat hat, recht leicht entscheiden können.

26. März 1897.

---

## Referate.

---

**Buchner, Eduard, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen.**  
[Vorläufige Mitteilung.] (Ber. der deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXX. No. 1. p. 117.)

Eine Trennung der Gärwirkung von den lebenden Hefezellen ist bisher nicht gelungen. Verf. beschreibt ein Verfahren, welches diese Aufgabe löst.

---

1) J. Eriksson, Einige Beobachtungen über den stammbewohnenden Kiefernblasenrost, seine Natur und Erscheinungsweise. (Centralbl. f. Bakt. u. s. w. II. Abt. 1896. p. 388 ff.)

2) J. Eriksson, Vie latente et plasmatique de certaines Uredinées. (Compt. rend. 1897. 1 Mars.) — Der heutige Stand der Getreiderostfrage. (Ber. d. Dtsch. bot. Gesellsch. Bd. XV. 1897.)

1000 g für die Darstellung von Preßhefe, gereinigte Bierhefe werden mit dem gleichen Gewicht Quarzsand und 250 g Kieselguhr sorgfältig gemengt und dann zerrieben, bis die Masse feucht und plastisch geworden ist. Man setzt dem Teig 100 g und später nochmals die gleiche Menge Wasser zu und bringt ihn allmählich unter einen Druck von 4–500 Atmosphären. Aus einem Kilo Hefe gewinnt man 500 ccm Preßsaft, welche gegen 300 ccm Zellinhaltssubstanzen enthalten.

Der filtrierte Preßsaft stellt eine klare, nur opalisierende, gelbe Flüssigkeit von angenehmem Hefegeruch dar. Beim Kochen tritt starke Ausscheidung von Gerinnsel ein, so daß die Flüssigkeit fast vollständig erstarrt.

Der Preßsaft vermag Kohlehydrate in Gärung zu versetzen. Beim Mischen mit dem gleichen Volumen einer konzentrierten Rohrzuckerlösung tritt schon nach  $\frac{1}{4}$ –1 Stunde regelmäßige Kohlensäureentwicklung ein, die tagelang andauert. Ebenso verhalten sich Trauben-, Frucht- und Malzzucker; keine Gärungserscheinungen treten dagegen auf mit gesättigter Milchsucker- sowie mit Mannitlösung.

In einem Versuche mit einer 37-proz. Saccharoselösung waren 2,1 g Alkohol durch Gärung entstanden.

Sättigen des Gemisches von Preßsaft und Saccharoselösung mit Chloroform verhindert die Gärung nicht. Ebenso wenig vernichtet Filtrieren des Preßsaftes durch ein sterilisiertes Berkefeldt-Kieselguhrfilter die Gärkraft.

Weitere Versuche müssen entscheiden, ob thatsächlich der Träger der Gärwirkung durch Pergamentpapier zu diosmieren vermag, wie es den Anschein hat.

Das Gärvermögen des Preßsaftes geht mit der Zeit allmählich verloren; dagegen behält ein mit Rohrzucker versetzter Saft die Gärwirkung im Eisschrank mindestens zwei Wochen lang.

Um über die Natur der wirksamen Substanz im Preßsaft Aufschluß zu erhalten, sind bisher nur wenige Versuche ausgeführt worden. Die wirksame Substanz scheint ihre Wirkung schon bei 40–50° einzubüßen oder zu gerinnen und auszufallen. Der Alkoholniederschlag aus dem Preßsaft besaß auf Rohrzucker keine Gärwirkung.

Für die Theorie der Gärung sind bisher etwa folgende Schlüsse zu ziehen. Zunächst ist es bewiesen, daß es zur Einleitung des Gärungsvorganges keines so komplizierten Apparates bedarf, wie ihn die Hefezelle vorstellt. Als Träger der Gärwirkung des Preßsaftes ist vielmehr eine gelöste Substanz, zweifelsohne ein Eiweißkörper zu betrachten. Dieselbe wird von dem Verf. als Zymase bezeichnet.

Man wird kaum in der Annahme fehlgehen, daß die Zymase zu den genuinen Eiweißkörpern gehört und dem lebenden Protoplasma der Hefezelle noch viel näher steht als das Invertin.

Die Anschauung, daß ein den Hefezellen entstammender, besonders gearteter Eiweißkörper die Gärung veranlasse, ist bekanntlich als Enzym- oder Ferment-Theorie bereits 1858 von M. Traube

ausgesprochen und später insbesondere von F. Hoppe-Seyler verteidigt worden.

Ähnliche Ansichten hat Miquel bezüglich der Urase, des von den Bakterien der sog. Harnstoffgärung ausgeschiedenen Enzyms, geäußert. Er bezeichnet dieselbe direkt als Protoplasma, das des Schutzes der Zellhaut entbehre, außerhalb derselben wirke und sich hauptsächlich nur dadurch von demjenigen des Zellinhaltes unterscheide. Auch die Erfahrungen von E. Fischer und P. Lindner bezüglich der Einwirkung der *Monilia candida* auf Zucker gehören hierher.

Die Vergärung des Zuckers durch die Zymase kann innerhalb der Zellen stattfinden; wahrscheinlich aber scheiden die Hefezellen diesen Eiweißkörper in die Zuckerlösung aus, wo er die Gärung bewirkt.

Die Versuche wurden auch mikroskopisch untersucht und fanden sich in allen Fällen keine Organismen, sondern lediglich Eiweißgerinnsel als Ursache der mehr oder minder starken Trübung. Von einem Versuch wurden auch 6 Plattenkulturen angelegt. Nach 6 Tagen zeigte eine Würzelatineplatte 11 Kolonien, die beiden anderen waren steril geblieben; die 3 Peptongelatineplatten wiesen gleichmäßig 50–100 Kolonien auf und waren verflüssigt worden. In Anbetracht der bei diesen Versuchen zur Aussaat gelangten großen Flüssigkeitsmengen (je 1 cm) bewiesen die Ergebnisse, daß die Gärwirkung nicht von Mikroorganismen ausgegangen war, was übrigens schon durch das rasche Auftreten der Gärungserscheinungen ausgeschlossen ist.

Endlich wurde bei 2 Versuchen der Preßsaft durch sterilisierte Berkefeldt-Kieselguhrfilter gesaugt. Bei einem Versuche war außerdem auch noch die Rohrzuckerlösung im Autoklaven sterilisiert worden, und wurde die Mischung der beiden Flüssigkeiten unter allen aseptischen Vorsichtsmaßregeln vollzogen.

Die oben geschilderte Auspressungsmethode ist auch zur Gewinnung des Inhaltes von Bakterienzellen geeignet.

H. Will (München).

**Kobert, Rudolf**, Ueber den Kwaß und dessen Bereitung. Zur Einführung desselben in Westeuropa. (Separat-Abdruck aus Bd. V (1896) der historischen Studien aus dem pharmakologischen Institute der Kaiserlichen Universität Dorpat.) 32 p. Halle a. S. (Tausch u. Grosse) 1896.

Verf. betont im voraus, daß er den Wert des gehopften Bieres sehr wohl kennt und nicht daran denke, dasselbe aus der Welt zu schaffen; wohl aber würde er sich freuen, wenn neben demselben für gewisse Fälle der unschädliche Kwaß auch in Westeuropa bekannt würde und zur Einführung käme.

Der Kwaß bildet in Rußland ein alltäglich in Tausenden von Litern konsumiertes, in jeder Haushaltung darstellbares Nationalgetränk, das selbst von den Herrschaften an der Tafel des Czaren mindestens im Sommer getrunken wird, außerordentlich wohlfeil ist, und keine einzige der gefährlichen Wirkungen des Alkohols entfaltet.

Nach der Definition von Kobert ist der Kwaß ein durch gleichzeitige saure und alkoholische Gärung 1) aus Mehl von Weizen, Roggen, Gerste, Buchweizen, oder 2) aus einer diesen Mehlsorten entsprechenden Malzart, oder 3) aus Brot, oder 4) aus einem Gemisch der genannten Stoffe mit oder ohne Zusatz von Zucker oder zuckerhaltigen Naturprodukten bereitetes, im Stadium der Nachgärung befindliches alkoholarmes und hopfenfreies Getränk, dem meistens gewürzte Zusätze, und zwar namentlich Pfefferminze, hinzugefügt werden. Die Farbe des Kwaß ist ebenso wechselnd wie die des Bieres. Falls zur Darstellung, abgesehen von der Hefe, andere als die eben bezeichneten Substanzen verwendet werden, ist die Flüssigkeit als Kunstkwaß zu bezeichnen. Das Wort Kwaß bedeutet nach Angabe des russischen Grammatikers Potebnia in der russischen, polnischen und böhmischen Sprache Säure, sauren Geschmack; auch Sauerteig und Sauerampfer hängen damit zusammen.

Der Gebrauch des Kwaßes als Genußmittel und Heilmittel ist über ungeheure Länderstrecken des russischen Reiches verbreitet und hat in allen russischen Hospitalern und bei allen russischen Truppen Eingang gefunden. Die Methode der Bereitung des Hospitalkwaß ist genau vorgeschrieben. Derselbe ist nach Iljinsky ein Mittel, welches die gleichförmige, der Geschmacksverbesserungszusätze entbehrenden Krankenhauskost genießbar, bekömmlich, ja wohlschmeckend macht.

Beim Militär wird in allen echt russischen Regimentern, sowohl für die Mannschaften als für die Offiziere von besonders dazu ausgesuchten Soldaten jederzeit Kwaß dargestellt, resp. vorrätig gehalten. In den letzten zwei Jahrzehnten wird derselbe in großen Städten auch fabrikmäßig dargestellt.

Um einen Begriff von den Methoden der Herstellung zu geben, sei im Folgenden das Rezept zur Bereitung des Hospitalkwaßes im klinischen Militärhospital zu St. Petersburg angegeben.

4 Pud 10 Pfund Roggenmalz, 4 Pud Gerstenmalz, 1  $\frac{1}{2}$  Pud Roggenmehl schüttet man in einen Kübel, übergießt mit gekochtem Wasser, mischt sorgfältig durch und preßt darauf in gußeiserne Gefäße, welche auf 9 Stunden in den Ofen kommen. Darauf wird alles aus den gußeisernen Gefäßen in einen besonderen reingewaschenen Kübel gegossen und mit kochendem Wasser bis zu 80 Wedro angefüllt. Nach 8 Stunden wird alles in ein zweites reines Gefäß und zwar in einen Kübel und aus diesem in 9 Fässer gefüllt. Darauf werden 5 Pfund Pfeffermünze 7 Stunden lang in einem gußeisernen Gefäß gebrüht, in ein anderes größeres gegossen, in welchem  $\frac{3}{4}$  Pfund Hefe und 2 Pfund Weizenmehl fein verteilt sind. Das Ganze wird gemischt und zu gleichen Teilen in jedes Faß gegossen. Nach Verlauf von 2—3 Tagen ist der Kwaß zum Gebrauche fertig.

Ueber die chemische Zusammensetzung des Kwaß liegen nur wenige Angaben vor. Die ausführlichsten Mitteilungen in dieser Hinsicht entstammen einer schon im Jahre 1875 verfaßten Dissertation von Nikolai Georgiewsky (Ueber die Beziehungen des Kwaß zum Bier und diätetische Bedeutung der freien Säuren in diesen Getränken. Petersburg 1875. p. 65. [Russisch.]) und seien aus derselben

folgende Zahlen, welche bei der Analyse von verschiedenen Kwaß erhalten wurden, mitgeteilt.

## I.

	Spez. Gew. bei 17,5° C	Spez. Gew. nach Abdampf. des Alkohols bei 17,5° C	Alkohol Volum. Proz.	Kohlensäure Proz.	Essigsäure Proz.	Milchsäure Proz.	Extrakt Proz.
Max.	1,016	1,0186	2,6	0,159	0,088	0,48	5,0
Min.	1,0025	1,0084	Spur	0,035	0,007	0,18	1,0

## II.

	Max.	Min.
Glykose	1,85	0,25
Dextrin	1,25	0,30
Milchsäure	0,48	0,18
Fette	0,10	0,015
Asche	0,38	0,04
Eiweiß	0,45	0,165
Andere organische Bestandteile	0,705	0,18
Bestandteile, die in Alkohol löslich sind	1,505	0,475
Bestandteile, die in Alkohol unlöslich sind	8,695	1,290

Ueber die im Kwaß vorhandenen Mikroorganismen liegen nur von A. B. Uspenski (Zur Bakteriologie des Kwaß. Dissertation. Petersburg 1891. [Russisch.]) eine Untersuchung vor. Nach ihm enthält der Kwaß neben ungeheuren Mengen von Hefepilzen eine nur sehr unbedeutende Menge von Bakterien. Nach Iljinsky ist die Kwaßhefe obergärig. Die Zahl der Bakterienarten, welche im Kwaß angetroffen werden und welche die essigsäure und milchsäure Gärung bedingen, ist sehr beschränkt.

H. Will (München).

**Dammann**, Ein Fall von bitterer Milch und dessen Beseitigung. (Deutsche tierärztl. Wochenschr. Jahrg. V .1897. No. 1. p. 4—6.

Zunächst wurden die ersten 3—4 Züge Milch aus jedem Strich aller Kühe in ein besonderes Gefäß gemolken und dieses Gemisch unschädlich beseitigt. Nach vorherigem Putzen der Tiere werden die Euter und Zitzen sämtlicher Kühe mit einer 2-proz. lauwarmen Sodalösung sorgfältig reingewaschen, die Streu entfernt, die Standplätze abgefeigt und mit den Jaucherinnen mittelst 3-proz. Kreolinlösung abgeschwemmt. Sämtliche Zitzenkanäle wurden unter Einführung einer Spritze mit gut abgerundeter Spitze mittelst einer 3-proz. wässrigen Borsäurelösung desinfiziert.

Nach dem Eintreiben der Borsäurelösung entleerten sich an den Eutern ungeheure Mengen zottiger gerinnselartiger Massen.

Für das weitere sollte eine Aenderung des Stallpflasters und der Jaucherinnen erfolgen. Ein fester und undurchlässiger Boden aus Cementbeton oder Klinkern ist unbedingt notwendig.

Von großem Interesse ist die Wahrnehmung, daß infolge der

Beseitigung des Bitterwerdens der Fettgehalt der Milch ganz erheblich zugenommen hatte. Früher waren 18 l Milch für 1 Pfd. Butter nötig gewesen, jetzt lieferten 14 l dasselbe.

E. Roth (Halle a. S.).

**Vuillemin, Paul**, Association du *Chaetophoma oleacina* et du *Bacillus oleae*. (Bull. Soc. mycol. de France. T. XIII. Fasc. 1. 1897. p. 44—45.)

Verf. hatte in einem früheren Aufsatz, den er der Société mycologique vorlegte, unter dem Namen *Chaetophoma oleacina* einen Hyphenpilz beschrieben, der allgemein dem *Bacillus Oleae* Gesellschaft leistet, und der dem Verf. daher bei der Verursachung der Krankheit der Oelbäume, die dem Spaltpilz zugeschrieben wird, eine gleiche Rolle zu spielen schien, wie die *Mycogone rosea* bei der Bakterienzersetzung des Erdritterpilzes, *Tricholoma terreum*, nämlich die, den Bakterien den Weg in die Wirtspflanze zu bahnen. (Vgl. P. Vuillemin, Sur une maladie des Agarics produite par une association parasitaire. [Bull. de la Soc. myc. de France. T. XI. 1895.] Verf. hat nun an Stücken krebsskranker Eschen, die er von Noack aus Darmstadt erhielt (neben der *Aposphaeria fibricola* (Berk.) Sacc. an abgestorbenem Holz) gleichfalls die charakteristischen Fruktifikationen der *Chaetophoma oleacina* gefunden und die Identität des Urheberbacillus des Eschenkrebses mit dem *Bacillus oleae*, die auch Noack fand, bestätigt. Er hatte den *Bacillus* auch bei Nancy an Eschen gefunden und es ist von besonderem Interesse, daß die Association von *Chaetophoma oleacina* und *Bacillus oleae* in gleicher Weise an den Eschen in Deutschland und Frankreich wie an den Oelbäumen sich findet. Es ist dies ein weiteres Beispiel der Genossenschaften von Spalt- und Hyphenpilzen an Bäumen, die Ref. im Centralbl. f. Bakteriöl., Parasitenk. und Infektionskrankh. II. Abt. Bd. II. 1896. No. 10/11 beschrieben hat. Da nach Noack's erster Mitteilung, in der Zeitschr. für Pflanzenkrankh. Bd. III. Heft. 4. p. 193 ff., auch von einem Hervorquellen des Bakterienschleimes aus dem Eschenstamm bei feuchtem Wetter die Rede ist, so erinnert diese Association in mehrfacher Hinsicht an die durch *Endomyces Magnusii* und *Leuconostoc Lagerheimii* bewirkte krebsartige Krankheit der Eichen etc.

Ludwig (Greiz).

**Frank**, Bericht über Versuche zur Bekämpfung der Herz- und Trockenfäule der Zuckerrüben im Jahre 1896. (Zeitschr. des Vereins für die Rüberzuckerindustrie des Deutschen Reiches. 1896. p. 901.)

Der Bericht umfaßt nicht nur die Ergebnisse der im Auftrag des Landwirtschaftsministers im Jahre 1896 angestellten Versuche zur Bekämpfung der Herz- und Trockenfäule der Rüben, sondern auch die bei dieser Gelegenheit gemachten Beobachtungen über das diesjährige Auftreten der Krankheit und über wissenswerte neue, das Wesen der Krankheit betreffende Thatsachen.

## I. Verbreitung und Ort des diesjährigen Auftretens von *Phoma Betae*.

Verf. hat bereits früher festgestellt, daß Trockenheit allein nicht notwendig die Herz- und Trockenfäule hervorruft und daß andererseits die Krankheit entstehen kann zu Zeiten, an Orten und unter Umständen, wo durchaus nichts von einem Wassermangel der Pflanze vorhanden ist, daß also eben noch andere Faktoren dazu gehören, welche unter Umständen sogar ohne den Faktor der Trockenheit die Krankheit erzeugen können. Diese Thatsachen, daß die Krankheit und die Trockenheit nicht parallel gehen, ist in dem regenreichen Sommer 1896 in so eklatanter Weise bestätigt worden, wie es Verf. kaum vermutet hätte, und führt er diesbezüglich die in der Provinz Posen, Uckermark und Mecklenburg, Schlesien und Provinz Sachsen zu seiner Kenntnis gelangten Vorkommnisse an, welche obige Thatsache beweisen. Von Interesse ist ein Fall in der Provinz Sachsen, wo der Pilz in einer von der gewöhnlichen Art abweichenden Form auftrat und einen verschärft perniziösen Charakter annahm. Trotz heftigem Regen starben hier die Blätter vollständig ab und ging dieses Absterben bis Anfang August soweit fort, daß schließlich nur die Herzblätter übrig blieben, die hier auffallenderweise umgekehrt wie sonst bis zuletzt sich gesund erhielten. Der Pilz erzeugt große graue Flecke auf den erwachsenen bis zu den halbwüchsigen, im übrigen noch völlig grünen und gesunden Blättern und trat auch auf den Blattstielen und besonders auf den Basalteilen derselben auf. In den letzteren durchsetzte die Verpilzung und Erkrankung sehr bald die ganze Quere des Stieles, so daß von diesem Augenblicke an selbstverständlich dem ganzen Blatte die Zufuhr von Wasser und Nahrung von unten aus unterbunden war und daraus sich einfach das Abwelken und Absterben der Blätter auch trotz des Regenwetters erklärte. Infektionsversuche an gesunden märkischen Rüben ergaben dieselben Krankheitserscheinungen und hatte also dieses *Phoma Betae* genau wieder denselben perniziösen Charakter und dieselbe Auswahl der anfälligen Teile der Pflanze bewahrt, wie der Mutterpilz, von welchem es stammte, infolge dessen man hier also eine physiologisch anders geartete Rasse derselben Pilzspecies vor sich hat.

## II. Die Versuchsergebnisse.

Den angestellten Versuchen lagen 2 Hauptpläne zu Grunde. Einmal sollten in verschiedenen eigentlichen *Phoma*-Gegenden eine Anzahl von Bekämpfungsmaßregeln, besonders diejenigen erprobt werden, welche schon im Jahre vorher sich als vorteilhaft erwiesen hatten, und dann sollten gewisse Behandlungsweisen der Zuckerrüben, die sich im vorigen Jahre als Gegenmittel gegen Herz- und Trockenfäule erwiesen hatten, in ihren Wirkungen auf die Rübenpflanze an und für sich, insbesondere auf die Ernteresultate, genauer geprüft werden, um den sanitären Nutzen gegenüber auch den etwaigen Nachteil dieser Methoden genau feststellen zu können. Ueber letztere Versuche wird Heinsen später noch besonders berichten.

Was nun den ersten Hauptplan anbetrifft, so haben die durchgeführten Versuche folgende praktische Ergebnisse ergeben: Die



Versuche, ein Mittel zur Bodeninfektion gegen die Krankheitskeime der Herz- und Trockenfäule zu finden, sind bis jetzt erfolglos geblieben. Auch Tiefpflügen des Bodens vermag die Krankheit nicht zu verhüten. Die vermutete krankheitshemmende Wirkung von Stickstoffdüngungen hat sich nicht bewährt. Im Gegenteil kann die vom Erdboden ausgehende Infektion durch Chilisalpeter nicht vermindert, wohl aber vermehrt werden. Späte Bestellung der Rüben hat sich als ein der Krankheit mächtig entgegenwirkendes Mittel bestätigt und verdient daher Beachtung. Die Operation des Abblattens der Rüben im Juli bei Eintritt einer den Rüben gefahrdrohenden Trockenheit, bestehend im Abschneiden des ganzen Rübenlaubes etwa handbreit über dem Erdboden, kann einen vorzüglichen Schutz gegen die Krankheit gewähren und ist daher höchst beachtenswert, besonders in solchen Jahren, wo das Wetter im Juni oder Juli sich zur Trockenheit zu neigen beginnt oder wenn bereits die ersten Anfänge der Herzfäule sich zeigen sollten. Die Beobachtungen, wonach auf gewissen Feldern weder künstliche Bewässerung, die nach Bedarf gegeben wurde, noch auch reichliche Niederschläge das Auftreten der Krankheit verhindern, zeigen, daß es Felder von höchster Auffälligkeit für *Phoma Betae* giebt. Ob dies daran liegt, daß auf diesen Feldern der Erdboden ungewöhnlich stark mit den betreffenden Pilzkeimen verseucht ist, oder daß er eine Eigenschaft besitzt, welche diese Pilze in ihrer Entwicklung besonders begünstigt oder welche die Rübenpflanze in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen den Pilz schwächt, sind Fragen, welche vorläufig der Wissenschaft zur Beantwortung überlassen bleiben. Für die Praxis geht aber jedenfalls das eine hervor, daß das Jahr 1896 besonders in Schlesien Gelegenheit gegeben hat, solche Felder kennen zu lernen, welche im höchsten Grade der Herz- und Trockenfäule der Rüben ausgesetzt sind, auf denen die Krankheit nicht nur in trockenen, sondern auch in regenreichen Jahren zu erwarten ist. Sollte sich auf solchen Feldern auch mit den hervorgehobenen Gegenmitteln keine Besserung erzielen lassen, dann dürfte es wohl das Richtige sein, auf den so kenntlich gewordenen Feldern, den Rübenbau ganz zu unterlassen und dann also für sie einen anderen Fruchtwechsel einzuführen.

Stift (Wien).

**Mattirolo, O.**, *Sopra alcune larve micofaghe.* (Bull. de Soc. botan. italiana. 1896. p. 180—183.)

In den Fruchthäufchen des *Aecidium Asperifolii* Pers. auf *Symphytum orientale* L. im botan. Garten zu Bologna, in jenen von *Aecidium Clematidis* DC. daselbst und zu Casalecchio di Reno, ferner in jenen des *Phragmidium subcorticium* Schrk. an mehreren Orten im Gebiete von Bologna beobachtete Verf. die Gegenwart von mykophagen Larven. Letztere fressen die *Aecidiosporen*, deren organgegelbe Farbe durch ihre Körperhaut hindurch schimmert, weg, so daß die Peridien bald weißlich erscheinen, noch bevor die *Aecidien* absterben.

Eine genauere Untersuchung ergab, daß es sich in allen Fällen um Gallmückenlarven, namentlich Arten der Gattung *Diplosis* H.

Lw., handelte, doch ergaben die angestellten Züchtungen, um die Tiere im ausgebildeten Zustande zu erhalten, nur ungünstige Resultate. Solla (Triest).

---

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

---

**Bokorny, Th.,** Beeinflussung der Alkoholgärung durch chemische Substanzen. (Allgem. Brauer- und Hopfenzeitung. 1896. No. 89. p. 1573.)

Verf. giebt eine Uebersicht über fremde und eigene Untersuchungen, welche die Beeinflussung der Alkoholgärung des Zuckers durch chemische Substanzen uns vor Augen führen. Von den eigenen Versuchen desselben sei Folgendes erwähnt:

Bei einer Verdünnung von 1:5000 war durch Schwefelsäure die Gärung aufgehoben; bei einer Verdünnung von 1:20000 trat aber noch Gärung ein.

Ebenso verhielt sich Kalilauge in derselben Verdünnung.

Kupfervitriol und Sublimat vermochten bei einer Verdünnung von 1:20000 die Gärung nicht vollständig zu unterdrücken.

Als bedeutend schädlicher für die Gärthätigkeit der Hefe erwiesen sich dagegen Kaliumpermanganat, sowie freie Halogene. Bei einer Verdünnung von 1:10000 wurde die Alkoholgärung durch obiges Reagens ganz unterdrückt, ebenso durch Chlor und Jod in derselben Verdünnung, nicht aber durch Brom.

1-proz. Lösungen von chlor- und jodsaurem Kali unterdrückten die Gärung bei Gegenwart von Nährsalzen nicht, ebensowenig wirkte eine Phosphorlösung von 1:20000 tödlich auf die Hefe.

Organische Nitroverbindungen schienen dagegen ziemlich giftig für die Hefe zu sein; so trat bei einem Gehalt von 0,1 Proz. o-Nitrozimmtsäure in der Flüssigkeit keine Gärung ein; o- und p-Nitrotoluol unterdrückten die Gärung schon bei einem Gehalte von 0,02 Proz.

Durch 0,1 Proz. o-Nitrobenzaldehyd wurde die Gärung nicht ganz unterdrückt, wohl aber durch 0,02 Proz. Bromtoluol und 0,01 Proz. o-Toluidinsulfat. Dagegen erwies sich Cyankalium, Strychninnitrat, essigsaures Chinin in einer Verdünnung von 1:5000 noch nicht als tödlich für die Hefe. L. Steuber (München).

---

## Original-Referate aus bakteriologischen und gährungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

*Nachdruck verboten.*

### Reichsanstalt für Bakteriologie und Pflanzenschutz.

Am 26. März ist im Reichstage ein für die Bakteriologie außerordentlich wichtiger Antrag des Abgeordneten Dr. Schultz-Lupitz verhandelt worden. Der Antrag lautete dahin, eine eigene Reichsanstalt für landwirtschaftliche Bakteriologie und Pflanzenschutz zu errichten.

Bei der großen Bedeutung und dem Erfolge, den der Antrag gehabt hat, dürfte es angebracht sein, die Begründung, welche Schultz-Lupitz seinem Antrage gab und die sich daran anschließende Diskussion in ihren wesentlichen Punkten nachstehend wiederzugeben:

„Der vorliegende Antrag hat das Ziel, zur Gesundung unserer vaterländischen Landwirtschaft mit beizutragen infolge einer Verbilligung der Erzeugungskosten und infolge des Schutzes der vaterländischen Ernten, also beizutragen zu einer Verbilligung des Brotes unserer Gesamtbevölkerung.

Die Wünsche der Landwirtschaft in dieser Richtung sind nicht neu. Bereits seit 20 Jahren wird der Wunsch vielseitig aus den Kreisen der Landwirtschaft laut.

Zuerst war es der deutsche Landwirtschaftsrat, der im Januar 1880 einen diesbezüglichen Antrag an den Reichskanzler richtete, eine Centralstelle im Reiche einzurichten behufs Beobachtung und Vertilgung der Feinde der Kulturpflanzen aus dem Bereiche der schädlichen Pilze und Insekten.

Im Jahre 1890 hat alsdann die Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft die Sache aufgenommen, hat einen Sonderausschuß für Pflanzenschutz ins Werk gesetzt und hat über ganz Deutschland ein Netz von Auskunftstellen verbreitet, um den Landwirten in der Richtung des Pflanzenschutzes zu nützen.

In demselben Jahre hat man sich auch auf dem internationalen landwirtschaftlichen Kongresse in Wien mit der Sache beschäftigt und hat dort in einer Resolution festgesetzt, daß es für die europäische Landwirtschaft zweckmäßig, ja notwendig sei, in der Frage des Pflanzenschutzes in den Kulturländern mehr als bisher zu thun.

Es ist Ihnen ja bekannt, daß ich schon mehrere Male die Reichsregierung beim Etat des Reichsamts des Innern und speziell den Herrn Staatssekretär des Innern darauf aufmerksam gemacht habe, wie zweckmäßig eine derartige Einrichtung sei, um die Landwirtschaft widerstandsfähiger gegenüber der ausländischen Konkurrenz zu machen, wie die Ernte in Deutschland, einem Lande mit so hoher Kultur, ungeschützt dastehe, wie an der offenen Tafel der Früchte auf dem Felde sich alle möglichen Schädlinge ergötzen und wie hinterher der Nutzen des Landmanns geschmälert und infolge der geringeren Ernte die Herstellung der Ware sehr erheblich verteuert wird.

Was nun die Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft in Deutschland eingerichtet hat, ist für Deutschland vorläufig nur als Notbehelf zu be-

trachten. Es kommt jetzt aber noch ein anderes Moment hinzu, das ist die Bakteriologie. Seit etwa 10 Jahren sind die Ergebnisse der Bakteriologie von Jahr zu Jahr in einer Weise gewachsen, daß man staunt über die Erfolge, welche die junge Wissenschaft auf manchen ihrer verschiedensten Einzelgebiete zu verzeichnen hat. Auf dem medizinischen Gebiete, auf dem Gebiete der Menschen- und Tierheilkunde, auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Gewerbe, wie der Spiritusbrennerei, sind aner kennenswerte Fortschritte gemacht worden. Auch der Brauerei ist es gelungen, durch Züchtung von Reinkulturen ein ganz vorzügliches Bier herzustellen und für die Ausfuhr zu arbeiten. Auch auf dem Gebiete der Milchwirtschaft sind wir im Begriff, zu guten Erfolgen zu kommen.

Aber auf weiten Gebieten fehlt es noch völlig an der Forschung und das sind gerade nach meiner Auffassung die wichtigsten Gebiete. Es fehlt die Forschung über die Bakterien des Bodens und des Stallmistes, sowie über die Thätigkeit, welche von diesen Lebewesen ausgeführt wird. Wir wissen nicht, was da vorgeht.

Die Versuchsstationen sind seitens der Einzelstaaten in einer geradezu so sparsamen Weise bedacht, daß es nicht möglich ist, in der Forschung etwas Positives zu leisten. Es sind dort die Lehrer beschäftigt, junge Landwirte heranzubilden, in Demonstrationen zu unterweisen. Wenn sie nun ermüdet sind von einer außerordentlich aufreibenden Thätigkeit, dann sollen sie an die Forschung gehen als Nebenberuf. Daß da nichts mehr zu leisten ist, daß da überhaupt geleistet wurde, was heute geleistet ist, das ist im höchsten Grade anzuerkennen.

Nun ist erst in der jüngsten Zeit, in der Februarsitzung des Ausschusses der Düngerabteilung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft zur Sprache gekommen, wie nötig es ist, auf diesem Gebiete mit größter Energie vorzugehen — ich bemerke, daß dieser Ausschuss aus sachverständigen, außerordentlich tüchtigen Männern besteht. Die Angelegenheit ist ferner besprochen worden in der Düngerabteilung selbst, einer Versammlung, in welcher mindestens 200 außerordentlich tüchtige Landwirte zugegen waren; sie ist besprochen in dem Sonderausschuss für Abfallstoffe, in welchem die ersten Forscher Deutschlands mitarbeiten; sie ist endlich im Gesamtausschuss der Gesellschaft besprochen worden, und es sind in allen diesen Körperschaften einstimmige Beschlüsse gefasst worden über die Notwendigkeit der Einrichtung bakteriologischer Abteilungen bei allen landwirtschaftlichen Versuchsstationen Deutschlands, sowie der Schaffung einer Reichsanstalt. Wenn vor 40 und 50 Jahren die Errichtung chemischer Versuchsstationen eine absolute Notwendigkeit war, so liegt das heute ebenso bezüglich der bakteriologischen Institute. Auch dort liegt ein außerordentlich viel versprechendes Feld für die Wissenschaft vor.

Nun werden Sie ja sagen: wir können das ja so machen, wie es bisher gewesen ist, Deutschland ist decentralisiert, und die Einzelstaaten können die Sache machen. Dem steht entgegen die Not der Zeit. Wollen Sie Wege einschlagen, um die deutsche Landwirtschaft prästationsfähiger zu machen in der großen Weltkrise der Landwirtschaft, so ist

hier der Weg gegeben, auf welchem die Wissenschaft weiter helfen wird. Die Wissenschaft wird uns wettbewerbsfähig machen, sie wird zu Resultaten kommen, die wir heute kaum ahnen.

Nun könnte man sagen: warum centralisieren, warum irgendwo eine große Anstalt gründen? Ich habe vorhin schon angeführt, daß in den Einzelstaaten wenig Mittel dafür aufgewendet werden und aufgewendet werden können. Aber das ist es nicht allein. Das Gebiet ist so groß und umfangreich, daß dasselbe von einer der Einzelstellen aus nicht überblickt und beherrscht werden kann. Es ist dabei durchaus nötig, daß die Pflanzstätten der Wissenschaft überall, wo sie sind, auf das sorgfältigste erhalten bleiben und ausgebaut werden.

Ich denke mir etwa die Sache so, daß eine Anstalt errichtet werde in Berlin, Charlottenburg oder Dresden oder München, kurz und gut irgendwo, welche folgende Aufgaben hat: erstens die Forschung an sich, und zwar so reich ausgestattet, daß sie ähnlich wie die amerikanische Anstalt, über die ich noch sprechen werde, ausgestattet ist. Ferner soll sie das Beobachtungsmaterial sammeln und in betreff des Auftretens epidemischer Pflanzenkrankheiten bearbeiten, einen Aufklärungsdienst nach den Auskunftsstellen einerseits und nach den Landwirten hin andererseits besorgen. Endlich soll sie viertens in wichtigen Fällen Hilfskräfte absenden an den Arbeitsort der Einzelstationen. Im übrigen sollen aber die letzteren durchaus frei wie seither dastehen und in freier Forschung und Unabhängigkeit dort, wo es not thut, an Ort und Stelle arbeiten. Endlich soll die Reichsanstalt den verbündeten Regierungen als technischer Beirat für Bakteriologie und Pflanzenschutz dienen.

Ich möchte nun einen Blick in das Ausland werfen, wie es dort in dieser Richtung bestellt ist. Ich nenne da in Italien die Universität Pisa, dann Rom und Florenz; da sind drei Stationen. Ich nenne selbst das barbarische Rußland, welches im Süden drei ähnliche Stationen in jüngst verflossener Zeit eingerichtet hat. Ich nenne die Niederlande und Belgien; ich nenne namentlich auch Schweden, welches einen eigenen Ausschuss eingesetzt hat, um die Rostkrankheit des Getreides zu studieren, durch welche Verluste riesiger Art verursacht werden.

Den Schaden, welchen die kleinen Pilze der Landwirtschaft verursachen, ziffernmäßig vorzuführen, möchte ich mir ersparen; ich kann Ihnen aber sagen, daß sie den vierten Teil, oftmals die Hälfte der ganzen Ernte vernichten, und zwar kann ich Ihnen das aus meiner fünfzigjährigen Erfahrung als praktischer Landwirt sagen.

Amerika hat eine Centralstation eingerichtet in Washington und 46 Stationen in allen Staaten des Kontinents. Auch dort hat die Centralstation durchaus keine Gewalt, auch sie billigt die Freiheit der Wissenschaft in jeder Richtung. Aber sie sendet Leute hinaus, welche an Ort und Stelle studieren, welche den Landwirten und den Fachleuten bei der Forschung zur Seite stehen, und die Bekämpfung aller Pflanzenschäden als ihren Lebensberuf anzusehen haben. Der Apparat ist so groß, daß ich beim Lesen der Berichte erstaunt war über den Umfang und die Sorgfalt, welche die Bundesregierung aufwendet; und ich sagte mir: wenn eine Regierung so was thut, wie sollen wir denn dagegen bestehen können, wo wir — ich muß es wenigstens hier im Reichstage

sagen — ein so geringes Entgegenkommen bei allem, was die Landwirtschaft und deren Interesse betrifft, im Reiche bezw. bei der Reichsregierung finden? Die preussische Regierung ist nicht ganz unthätig gewesen. Sie hat seiner Zeit einen Gelehrten, den Dr. Hollrung aus Halle, zum Studium nach Amerika geschickt. Dieser hat einen Bericht erstattet, welcher im Jahrbuch der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft 1896 abgedruckt wurde. Seitens der Düngerabteilung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, der vorzustehen ich die Ehre habe, ist Herr Prof. Wohltmann in Bonn, ein durch seine Forschungen sehr vortrefflich bekannter Mann, mit der Klarlegung dieser Frage betraut worden. Beide Forscher sind des Lobes voll über die amerikanischen Anstalten, welche, stufenweise fortschreitend, treffliche Erfolge in Aussicht stellen. Beide Forscher kommen darin überein, daß wir auf diesem schwierigen Gebiete ganz sicher zu großen Resultaten kommen würden, wenn wir bei unseren relativ so unendlich viel größeren Ernten, bei dem viel größeren Kapital, welches in dem deutschen Boden investiert ist, in ähnlicher Weise den Pflanzenschutz ausüben würden.

Ich habe bereits 1890 im preussischen Abgeordnetenhaus einen diesbezüglichen Antrag gestellt; dieser Antrag ist vom Abgeordnetenhaus einstimmig oder doch mit überwältigender Mehrheit angenommen. Und was ist aus diesem kreisenden Berge herausgekommen? Es ist ein Assistent angestellt worden, dem man 3000 M. Gehalt giebt, so daß insgesamt etwa 5000 bis 6000 M. vom preussischen Staat dafür verausgabt werden. Das ist die Hilfe, die der preussische Staat seiner Zeit für diese so überaus große Sache gewährt hat. Das, was die Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft aus eigenen Mitteln und aus eigener Kraft geschaffen hat, ist unendlich viel mehr; aber es ist ein kleiner, ein jämmerlicher Notbehelf.

Die Thätigkeit der Bakterien in der Umsetzung aller Stickstoffkörper ist eine große. Ein Russe war es, welcher den Salpeterpilz entdeckte. Wir sind auf dem Wege dazu, ihn herzustellen, und es läßt sich vielleicht mit ihm eine bessere Ausnutzung des organischen Stickstoffs erreichen mit verhältnismäßig sehr geringen Kosten. Unser ganzes Vermögen besteht vorzugweise aus organischem Stickstoff; der ist es, welcher Vermögen schafft in der Landwirtschaft. Vereinigt hat der Landwirt sein Stickstoffkapital im Düngerhaufen in der Hand. Von diesem wurden seither im günstigsten Falle im ersten Jahre 27,28 Proz. ausgenutzt, oftmals auch noch sehr viel weniger, je nach dem Boden. Auf den allerbesten Böden kann man im günstigen Falle auf einige 40 Proz. rechnen; das andere geht heute verloren, geht in die Luft als freier Stickstoff, wird entbunden durch Bakterien. Hier einzugreifen ist Aufgabe der zu schaffenden Institute. Wenn es uns gelingt, daß wir den Stallmist nur 5 Proz. höher ausnutzen, dann werden wir unseren eigenen Bedarf an Brotkorn decken, dann werden wir ernten, was wir gebrauchen. Ich glaube, ich habe nach meiner Vergangenheit ein Recht, diesen Anspruch hier zu wagen.

Wir haben die Bakterienkunde in der Medizin in den ersten Anfängen, wir haben sie aber nicht für die Pflanzenwelt, wir kennen keine Pflanzenhygiene und wir wissen nicht, welche eine kleinste Lebewelt der Boden birgt, und wie deren Thätigkeit zu unserem Heile zu beeinflussen

ist. Ich behaupte: die ganze Pflanzenkultur wird grundlegend beeinflusst durch die Thätigkeit der Bodenbakterien. Wollen Sie die Früchte der Hygiene von Mensch und Tier in vollem Maße ernten, dann lassen Sie uns unten anfangen, von dem Boden, aus dem alles entstanden ist, lassen Sie uns den gesund gestalten, daß er gesunde Früchte trägt, daß die Pflanzenwelt gesund ist! — und wir werden alle, sowohl das gesamte Volk wie die Tierwelt, gesunden.

Wenn ich noch eins erwähnen darf, so ist es mir ein Bedürfnis, noch Folgendes auszuführen. Glauben Sie nicht, daß der amerikanische Farmer das leistet, was der deutsche Landwirt leistet. Er ist ja begünstigt durch seinen jungfräulichen Boden, aber er hat einen Nachteil gegenüber dem deutschen Landwirt. Ich glaube, es aussprechen zu dürfen: ich bin stolz darauf, zu den deutschen Landwirten zu gehören. Wir haben in Deutschland Landwirte, welche fähig sind, die Aufgaben, die an sie herantreten, zu lösen. Ich weiß, daß wir in der Landwirtschaft vorwärts gekommen sind kraft der Wissenschaft und kraft der Einsicht meiner Berufsgenossen.

Hier ist also neben verschiedenen anderen Wegen, der Landwirtschaft zu dienen, ein Weg gegeben, auf dem der Landwirtschaft geholfen werden kann. Vom Regierungstisch kam in diesen Tagen der Ausdruck: Wir müssen eine große Flotte haben, sonst könnte unser Volk verhungern, weil die Einfuhr unterbrochen werden könnte. Ich habe für alle Forderungen der Marine gestimmt; ich wünschte auch, daß sie angenommen wären, da ich sie anderweitig für notwendig halte. Aber dieser Grund könnte mich nicht rühren. Mit dem zehnten Teil der Kosten schaffen wir Brot aus eigenem Boden. Wir brauchen weder nach Rußland, noch nach Amerika, noch nach anderen Ländern auszuschaun, wenn unserer vaterländischen Landwirtschaft vermehrte Pflege zu teil wird. Die deutschen Landwirte sind kräftig und tüchtig genug, wenn ihnen die Mittel gewährt werden, und wenn ihnen geholfen wird auf technischem Gebiete, ihre Aufgaben zu lösen.

Ich spreche zum Gehalt des Herrn Staatssekretärs von Boetticher. Dieser hat sich darüber gewundert, als ich das vorige Mal die Sache zur Sprache brachte, daß er selbst noch in die Lage kommen solle, der Landwirtschaft Dienste zu leisten. Nun, ich will dem Herrn Staatssekretär von Boetticher gegenüber sehr gern aussprechen, daß die Landwirtschaft seine Dienste freudig und gern annimmt. Ich bitte Sie also, meinen Antrag anzunehmen.“

Die Antwort des Staatsministers von Boetticher lautete: „Die Absicht, von der die Resolution, die Ihnen zur Beratung vorliegt, ausgeht, ist gewiß eine anerkennenswerte und löbliche; wenn wir Einrichtungen treffen können, welche die Wirkung der landwirtschaftlichen Schädlinge einschränken bezw. ausschließen, so sollen wir alles, was zweckmäßig ist, thun, um solche Einrichtungen auch entsprechend zu gestalten. Der Herr Vorredner hat nun in seinem Vortrage daran erinnert, daß bisher auf dem Gebiete, auf das sich die Resolution bezieht, die Landwirtschaft selbst bereits vorgegangen sei, und daß auch die preussische Regierung und einzelne andere Regierungen vorgegangen seien, indem Institute errichtet worden sind, in denen bakteriologische und phytopathologische Untersuchungen zu Nutz und Frommen der Landwirtschaft vorgenommen

werden. Der Herr Vorredner ist aber der Meinung, daß alle diese Institute noch nicht zur vollen Entfaltung ihrer Wirksamkeit gekommen sind und noch nicht die Aufgabe, die ihnen gestellt ist, in vollem Maße erfüllt haben, wesentlich aus dem Grunde, weil sie nicht im Besitz der erforderlichen materiellen und intellektuellen Mittel gesetzt worden sind. Deshalb schlägt er Ihnen vor, nunmehr das Reich mit dieser Aufgabe zu betrauen und zu diesem Zwecke eine besondere Reichsanstalt einzurichten.

So sehr ich, wie gesagt, mit der Tendenz der Resolution einverstanden bin, und so wenig ich bis jetzt übersehen kann, welche Aufnahme diese Resolution, wenn sie vom Reichstage beschlossen werden sollte, im Kreise der verbündeten Regierungen finden wird — sie ist erst vorgestern verteilt worden, der Bundesrat hat also zu ihr noch keine Stellung nehmen können —, so glaube ich doch nicht, daß es der zweckmäßigste Weg zur Erreichung des Zieles sein würde, wenn man eine besondere Reichsanstalt für diesen Zweck errichtete. Wir sind sehr leicht bei der Hand, für alle möglichen Zwecke uns nach besonderen Behörden zu sehnen, und wir übersehen gar leicht, daß bereits Behörden vorhanden sind, die durch eine entsprechende Erweiterung ihrer Thätigkeit das besorgen können, wofür wir gern besondere Behörden haben möchten. Das Kaiserliche Gesundheitsamt würde, wenn man ihm die in Rede stehende Aufgabe stellte, und wenn man ihm die materiellen Mittel zuführte und zu diesem Zwecke auch noch sein Personal verstärkte, unschwer und ebensogut wie eine besondere Reichsanstalt dem Zwecke genügen, den man im Auge hat. Ich erinnere daran, daß das Gesundheitsamt auf diesem Gebiete bereits thätig ist insofern, als die Reblausangelegenheit, die Erforschung der biologischen Verhältnisse der Phylloxera und deren Bekämpfung zu seiner besonderen Thätigkeit gehört. Ich vermag nicht abzusehen, weshalb man, wenn man den Zweck der Resolution des Herrn Abgeordneten Schultz-Lupitz realisieren will, nötig haben sollte, noch eine besondere Reichsbehörde einzusetzen.

Ich mache mich also anheischig, mir den Grundgedanken der Resolution anzueignen — ob er, wie gesagt, bei den verbündeten Regierungen Beifall finden wird, kann ich nicht sagen. Ich mache mich weiter anheischig, darüber eine Untersuchung anzustellen, welche Mittel und Wege eröffnet werden müssen, um den Zweck der Resolution zu erreichen; und ich werde mich freuen, wenn die anzustellende Untersuchung dahin führt, daß wir einen bestimmten, praktisch gangbaren und wirkungsvollen Weg ermitteln, und daß ich im nächsten Jahre mit entsprechenden Forderungen an Sie herantreten kann. Hoffentlich wird dann durch die Thätigkeit des Organs, das wir schaffen oder mit der Ausführung der Aufgabe betrauen werden, ein Nutzen in dem Umfange, wie ihn der Herr Abgeordnete Schultz-Lupitz so blühend geschildert hat, für unsere heimische Landwirtschaft erwachsen.“

Die Mehrzahl der Parteien hatte sich von vornherein dem Antrage von Schultz-Lupitz sympathisch gegenübergestellt. Zu den Unterzeichnern des Antrages gehörten unter anderen die Herren von Kardorff, von Levetzow, von Stumm, Graf von Bismarck, Graf Kanitz, von Bennigsen, Geheimrat Paasche und Rickert. Durch ihre wiederholten lebhaften Beifallsbezeugungen zeigten die rechts-



stehenden Parteien, wie sehr sie mit der Tendenz des Antrages einverstanden waren. Aber auch von anderer Seite des Hauses wurde der Antrag außerordentlich sympathisch aufgenommen, wie aus den Ausführungen des Herrn Abgeordneten Dr. Müller-Sagan hervorging. Derselbe unterstützte den Antrag auf das wärmste und trat im übrigen dafür ein, daß man sich nicht nur darauf beschränken möge, hier und da einzelne neue Stellen an landwirtschaftlichen Hochschulen und Verwaltungsanstalten zu schaffen, oder etwa die Angelegenheit dem Reichsgesundheitsamte als Nebenaufgabe zuzuweisen. Man solle vielmehr in der von Schultz-Lupitz angeregten Weise vorgehen und entweder eine besondere Abteilung des Reichsgesundheitsamtes, oder besser noch eine besondere Centralstelle für das ganze Reich schaffen. Es biete sich hier eine Gelegenheit ersten Ranges, im Reiche für Kulturzwecke einmal gründlich einzutreten.

In seinem Schlufsworte führte hierauf Schultz-Lupitz folgendes aus:

„Ich bin sowohl dem Herrn Staatssekretär des Innern wie auch dem Herrn Vorredner sehr dankbar für das Wohlwollen, mit welchem sie meinen Antrag aufgenommen haben. Es ist mir nicht darum zu thun, ob mein Antrag in der von mir gewählten Form ausgeführt werde, sondern es ist mir allein um die Sache zu thun. Wenn der Herr Staatssekretär, wenn die verbündeten Regierungen daran Anstofs nehmen, in der von mir vorgeschlagenen Weise die Sache durchzuführen, so bin ich ebenso zufrieden, wenn sie einen anderen Weg dazu wählen, wo die Sache noch richtiger und besser ergriffen und gefördert werden kann. Ich möchte nur daran erinnern, daß die Landwirtschaft es sehr wohl verdient, eine landwirtschaftlich-technische Centralanstalt für Bakteriologie und Pflanzenschutz zu bewilligen. Die physikalisch-technische Reichsanstalt ist der Industrie gewidmet, sie hat der Industrie außerordentlich große Dienste geleistet, und es ist ganz zweifellos, daß die Früchte dieser Anstalt noch immer weiter und weiter wachsen werden für die deutsche Industrie; denn andere Völker werden uns das nicht nachmachen können, was dort geschaffen ist. Derjenige, der da mit eigenen Augen gesehen hat, weiß, was die Wissenschaft dort leistet. Die Naturwissenschaft ist eine Wissenschaft von unbegrenzter Produktionskraft; wenn man an sie appelliert, sie vergilt den Fleiß hundert- und tausendfach. Das Wort möchte ich an die verbündeten Regierungen richten: Ich will nicht hoffen oder wünschen, daß die deutschen Staatsmänner es vergessen, zu beobachten, in welcher Art und Weise die Naturwissenschaften ihre weiteren Fortschritte machen. Ich möchte Deutschland nicht wünschen, daß seine Regierungen überrascht werden von Fortschritten der Wissenschaft, die gewaltige Reformen nicht allein, sondern Stürze veranlassen können. Hier in meinem Antrag ist ein Feld von unbegrenzter, lediglich nützlicher allgemeiner Wohlfahrt dienender Thätigkeit.

Ich bescheide mich; mir ist es nur darum zu thun, die Sache zu erfassen. Ich stehe auf dem Boden des Vertrauens zu den verbündeten Regierungen: ich vertraue ihnen, daß sie meine Worte nicht ungehört sein lassen. Ich weiß, daß sie nach 10, nach 20 Jahren noch wieder aufleben werden, weil sie die Wahrheit enthalten. Ich will deshalb für jetzt die ganze Sache der Regierung vertrauensvoll in die Hände legen.

Uebers Jahr sprechen wir uns, so Gott will, wieder. Damit ziehe ich heute meinen Antrag zurück.“

Wenn somit Schultz-Lupitz seinen Antrag zurückgezogen hat, so kann dies natürlich nicht so aufgefaßt werden, als ob er jetzt überhaupt auf die Ausführung seiner Idee verzichte. Er hat vielmehr, wie er schon in seinem Schlusswort ausführte, nur die Angelegenheit der Regierung vertrauensvoll überlassen. Der Verlauf der Diskussion zeigt im übrigen auf das deutlichste, daß die Angelegenheit nicht wieder von der Bildfläche verschwinden kann. Ob nun das geplante Institut im Anschluß an ein schon vorhandenes anderes geschaffen wird, oder ob es als ein vollständig selbständiges ins Leben gerufen wird, ob es in Berlin, Dresden, München oder sonst irgend einem anderen Orte errichtet wird, bleibt sich wohl ziemlich gleich. Die Hauptsache ist die, daß es so bald wie möglich errichtet wird, und zwar in dem von Schultz-Lupitz so klar vorgezeichneten Umfange.

Man könnte vielleicht meinen, daß wir in Deutschland gegenüber anderen Staaten nicht so weit zurückgeblieben sind mit den Forschungen auf dem Gebiete landwirtschaftlicher Bakteriologie, und namentlich des Pflanzenschutzes, wie Schultz-Lupitz dies in seinen Ausführungen dargelegt hat. Allein, wenn wir uns zunächst auf bakteriologischem Gebiete umsehen, so werden wir vielleicht mit ganz vereinzelt Ausnahmen auf dem Gebiete der Gärungsgewerbe sehen, daß alle landwirtschaftlich-bakteriologischen Arbeiten von solchen Instituten in Angriff genommen sind, welche sich nur im Nebenfache hiermit beschäftigen können, und deren Hauptbedeutung auf einem anderen Gebiete liegt. Es giebt in Deutschland nicht ein einziges gleiches Institut, welches zu dem Zwecke, sich ausschließlich mit allen landwirtschaftlich-bakteriologischen Fragen zu beschäftigen, ins Leben gerufen wäre, und welches über Kräfte verfügte, die neben vollständiger Beherrschung der Bakteriologie auch in praktischer Hinsicht auf dem Gebiete der Landwirtschaft und demjenigen der Agrikulturchemie so zu Hause wären, wie dies zu einer gedeihlichen Forschung durchaus erforderlich ist. Wenn der Mediziner sich mit der Erforschung landwirtschaftlich-bakteriologischer Fragen beschäftigt, so ist dies dankenswert und wird nach wie vor mit Freuden begrüßt werden. Zur Fruchtbarmachung landwirtschaftlich-bakteriologischer Forschungen wird aber unbedingt erforderlich sein, daß der forschende Bakteriologe gleichzeitig die Landwirtschaftstechnik und überhaupt die Bedürfnisse der Landwirtschaft in vollem Umfange kennt und mit ihnen durchaus vertraut ist.

Aehnlich liegt es auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. Zwar ist in Preußen das Institut für Pflanzenphysiologie an der Königl. landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin erst kürzlich in dem Sinne erweitert worden, daß es sich auch eingehend mit Fragen des Pflanzenschutzes zu beschäftigen hätte und ist der Vorsteher dieses Instituts bekanntlich seit Jahren auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes außerordentlich thätig, zwar hat die Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft über ganz Deutschland Auskunftstellen über Pflanzenschutz errichtet, aber damit haben wir nicht das, was Schultz-Lupitz mit Recht in seinem Antrage gefordert hat. Er will etwas ganz anderes. Mit Recht hat er hervorgehoben, daß es sich nicht darum handele, eine Anzahl unabhängig voneinander forschender Arbeitsstellen in Deutschland zu schaffen, daß es sich nicht darum

handele, eine Anzahl Personen im Nebenamt oder gar, wie bei der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft, ehrenamtlich mit der Aufgabe des Pflanzenschutzes zu betrauen, sondern dafs uns eine Centrale fehle, welche einheitlich für das ganze Reich arbeite, welche nach einheitlichen Gesichtspunkten an den verschiedensten Stellen des Reiches ihre Thätigkeit aufnehme, und welche infolgedessen in der Lage sei, einheitlich Vorkehrungen zur Verhütung landwirtschaftlicher Schäden für das ganze Reich rechtzeitig treffen zu können. Dazu genügt es naturgemäfs nicht, wenn Universitätsprofessoren sich im Nebenamte mit dieser Forschung beschäftigen, so sehr auch deren Thätigkeit anerkannt werden mag, und so sehr die Verdienste, welche z. B. das Berliner Institut oder das Hallenser für Nematodenvertilgung sich bereits erworben haben, anerkannt werden.

Dazu genügt es nicht, wenn eine Anzahl sachverständiger Persönlichkeiten in ganz Deutschland sich ehrenamtlich mit dieser Frage beschäftigt. Dazu ist erforderlich, dafs ein mit allen modernen Hilfsmitteln ausgestattetes großes Institut vorhanden ist, welches namentlich auch über eine Anzahl tüchtiger Beamten verfügt, die die Aufgabe des Pflanzenschutzes zu ihrem ausschließlichen Lebensberuf gemacht haben. Es gehört dazu z. B. ein Insektarium. Ist uns doch z. B. die Lebensweise und Lebenswandlung einer Vielzahl von schädlichen Insekten völlig unbekannt. Ebenso steht es mit sehr sehr vielen Pilzen, diesen intensiven Schädigern der Pflanzenwelt. Hat doch z. B. der preussische Domainenfiskus die Domaine Bilderloh nach dreimaligem Ausgebot dem seitherigen stark in der Existenz bedrohten Pächter um 20 000 M. billiger wie bisher zuschlagen müssen, der Fritfliege halber!

Nach wie vor werden neben einem solchen Reichsinstitut die jetzt vorhandenen Institute ihre segensreiche Thätigkeit fortsetzen und dauernd die Arbeiten des Reichsinstituts unterstützen können. Ersetzen können sie aber ein solches niemals!

Zum Schluss noch einige Worte über die Form des Instituts:

Gewifs wird es leichter sein, die Angliederung an ein schon bestehendes Institut, wie z. B. an das Reichsgesundheitsamt, zu erreichen, als ein neues Institut zu schaffen, und es mag thatsächlich der von dem Staatsminister von Boetticher genannte Ausweg in praktischer Hinsicht der richtige sein. Aber eins ist hierbei nötig: Beide neue Abteilungen müssen einen eigenen verantwortlichen Chef haben, der ausschließlichen sich mit diesen Sachen zu beschäftigen hat und zielbewusst nach einheitlichen Gesichtspunkten beide Abteilungen leitet. Die Uebertragung dieser Arbeit an eine Persönlichkeit, welche nicht ausschließlichen sich dieser Sache zu widmen hat, sondern welche neben ihren anderen Arbeiten auch noch diese Arbeit übernimmt, dürfte der Sache in keiner Weise genügen, sondern teilweise vergebliche Ausgaben veranlassen. Allerdings sind reiche Geldmittel erforderlich, aber bei der Bedeutung der Angelegenheit dürfte kaum daran zu zweifeln sein, dafs diese Geldmittel bewilligt werden. Der Erfolg wird nicht ausbleiben.

Vogel.

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

- Beijerinck, M. W., Amöbenkultur auf festen Substraten. Antwort an Herrn Celli. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 3. p. 101—102.)
- Casagrandi, O., Sui terreni culturali per la ricerca dei saccaromiceti. (Riforma med. 1897. No. 14. p. 163—165.)
- Choquet, J., Présentation d'un microtome. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 34. p. 1090—1091.)
- Regaud, Cl., Note sur un flacon compte-gouttes filtreur. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 34. p. 1093—1094.)
- Simmonds, M., Zur Konservierung von Kartoffeln zu Kulturzwecken. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 3. p. 100—101.)
- Todd, G. B., The use of colour screens for microphotography. (Journ. of anat. and physiol. Vol. XXXI. 1896. Part. I. p. 114—115.)
- Trouessart et Duplonich, Sur la combinaison optique de M. Gavino et son adaptation à tous les microscopes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 34. p. 1088—1090.)
- Uchinsky, N., Ueber Diphtheriekulturen auf eiweißfreier Nährlösung. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 4. p. 146—147.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

- Chodat, E., Expériences relatives à l'action des basses températures sur *Mucor Mucedo*. (Bulet. de l'Herbier Boissier. 1896. No. 12. p. 890—897.)
- Fischer, E., Observations sur les urédinées. — Monographie des tubéracées. (Extr. d. arch. d. scienc. phys. et natur. 1896.) 8°. 4 p. Genève 1896.
- Gerber, C., Influence de la température et de l'aliment sur le quotient respiratoire des moisissures. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 3. p. 162—164.)
- Kayser, E., Les levures sélectionnées. (Moniteur vinicole. 1897. No. 2. p. 6.)
- Norton, J. B. S., A study of the Kansas ustilagineae, specially with reference to their germination. (Transact. of the acad. of scienc. of Saint Louis. 1896. p. 229—241.)
- Petit, P., Sur une différence entre les levures hautes et basses. (Journ. de la distillerie franç. 1897. No. 661. p. 47—48.)
- Meißner, Th. (Ref.), Franke, E., Götzse u. Thurmann, H., Beiträge zur Frage über die bei der Fäulnis stickstoffhaltiger organischer Substanzen eintretenden Umsetzungen. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLVIII. 1897. Heft 3/5. p. 189—245.)
- Frumet, A., Les formes du parasite du black-rot, de l'automne au printemps. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. No. 5. p. 250—252.)
- Sappin-Trouffy, Recherches histologiques sur la famille des urédinées. (Botaniste. 1896. p. 59—244.)
- Smith, A. L., Microscopic fungi new to, or rare in, Britain. (Journ. of botany. 1897. Jan. p. 7—8.)
- Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. (I. Nachtrag.) (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1897. No. 6. p. 91—92.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft und Wasser.

- Fouchet, G. et Bonjean, E., Contribution à l'analyse des eaux potables. (Annal. d'hygiène publ. 1897. No. 2. p. 150—169.)
- Bondet, H., Note sur l'adulteration des eaux potables de Curis-au-Mont-d'Or et sur les moyens d'y remédier. (Lyon méd. 1897. No. 1. p. 1—11.)

- Schumburg**, Ein neues Verfahren zur Herstellung keimfreien Trinkwassers. (Dtsche med. Wehschr. 1897. No. 10. p. 145—146.)  
**Vallin, E.**, Les eaux d'alimentation de la banlieue de Paris. (Rev. d'hygiène. 1897. No. 1. p. 1—13.)

### Boden.

- Mac Dougall, B. St.**, The bacteria of the soil with special reference to soil-inoculation. (Veterin. Journ. 1897. Febr. p. 79—95.)

### Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Delle, E.**, Action du formol sur les vins et les boissons fermentés. (Moniteur vinicole. 1897. No. 5. p. 18.)  
**Kirnka, H.**, Ueber die Giftwirkung der schwefligen Säure und ihrer Salze und deren Zulässigkeit zu Nahrungsmitteln. (Mtsbl. f. d. Gesundheitspf. 1897. No. 2. p. 21—22.)  
**v. Schab**, Beitrag zur Desinfektion von Leihbibliotheksbüchern. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 4. p. 141—146.)

### Fleisch.

- Butel, G.**, Die Verwendung des Fleisches tuberkulöser Tiere und die öffentliche Gesundheitspflege. 6. internat. tierärztl. Kongreß Bern. (Berichte u. Verhandl. Bern 1896. p. 481—498.)  
**de Yong, D. A.**, Ueber die Sterilisation des Fleisches tuberkulöser Tiere. 6. internat. tierärztl. Kongreß Bern. (Berichte u. Verhandl. Bern 1896. p. 499—504.)

### Milch, Molkerei.

- Keferstein, G.**, Ein neuer farbstoffbildender Micrococcus aus roter Milch. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 5. p. 177—179.)

### Bier, Brauerei.

- Ehrlich, E.**, Ueber abnorme Gärungserscheinungen. (Bierbrauer. 1897. No. 1. — Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1897. No. 15. p. 230.)  
**Reichard, A.**, Ueber Keimversuche mit beregneter Gerste des Jahrgangs 1896. (Wehschr. f. Brauerei. 1897. No. 7. p. 68—69.)  
**Trapp, H.**, Ueber Blasengärung. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1897. No. 19. p. 295.)  
**Will, H.**, Eine noch nicht beschriebene Art von Biertrübung. (Ztschr. f. d. ges. Brauereiwesen. 1897. No. 5. p. 77—78.)

### Wein, Weinbereitung.

- Bouffard, A.**, Traitement et guérison de la „casse des vins“; la casse en 1893/94. (Rev. de viticulture. 1897. No. 162. p. 81—86.)  
**Dal Piaz**, Das Fuchsig- oder Braunwerden von Weißwein. (Allg. Wein-Ztg. 1897. No. 6. p. 59—60.)  
**Kayser, E. et Barba, G.**, Contribution à l'étude des levures de vin. (Rev. de viticulture. 1896. No. 166. p. 199—202.)  
**Kulisch, P.**, Untersuchungen über die Vergärbarkeit einiger Zuckerarten, sowie das Verhältnis der aus denselben gebildeten Gärprodukte und über deren Verwendung bei der Weinverbesserung. [A. d. Bericht d. Kgl. Lehranst. in Geisenheim.] (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 5. p. 35.)  
**Puklavec, A.**, Ueber den schwarzen Brenner. (Ztschr. f. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1897. No. 5. p. 49—51.)  
**v. Thuemen, N.**, Vom Weine. IV. Die Hefe und die Verwendung reingezüchteter Heferasen. (Prometheus. 1897. No. 5. p. 273—277.) V. Die Vergärung und Behandlung der Weine bis zur Flaschenreife. (Ibid. p. 295—299.)  
**Wortmann, J.**, Ueber das Vorhandensein lebender Organismen im fertigen Weine. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 3. p. 17—18.)

Wortmann, J., Ueber die Herkunft der Weinhefen. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 5. p. 33—34.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

### Harmlose Bakterien und Parasiten.

Hiltner, L., Ueber die physiologische Bedeutung der Erlenknöllchen. (Forstl.-naturwissenschaftl. Ztschr. 1897. Heft 1. p. 23—26.)

### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Barbet, E., Sur l'hypothèse d'une diastase saccharogénique dans la betterave. (Distillerie franç. 1897. No. 658. p. 11—13.)

Caputh, L., The larch disease. (Gardener's chronicle. Ser. 3. 1896. No. 500. p. 93—94.)

Claassen, E., List of the „White mildews“ (Erysipheae Lev.) of Cuyahoga county and of their host-plants. (Annual rep. of the Ohio State Acad. of scienc. 1896. p. 31.)

Escherich, K. u. Escherich, G., Bestimmungstabelle der deutschen forstschädlichen Borkenkäfer zum praktischen Gebrauch für Forstleute. (Forstl.-naturwissenschaftl. Ztschr. 1897. Heft 1. p. 7—23.)

Galloway, B. T., A rust and leaf casting of pine leaves. (Botan. Gaz. 1896. No. 6. p. 433—453.)

Guiraud, D., Le botrytis cinerea. (Vigne franç. 1896. No. 24. p. 372—374.)

Honda, Ein gefährlicher Parasit in den Wäldungen Japans. (Forstl.-naturwissenschaftl. Ztschr. 1897. Heft 1. p. 36—37.)

Johnson, W. G., Descriptions of five new species of scale insects with notes. (Bulletin of the Illinois State laborat. of natural history, Urbana, Ill. Vol. IV. 1896. p. 380—395.)

Ormerod, E. A., Report of observations on injurious insects and common farm pests during the year 1896. With methods of prevention and remedy. 20. report. Roy.-8°. 170 p. London (Simpkin) 1897. 1 sh. 6 d.

P. V., La perpétuation et la dissémination du black-rot par les vrilles. (Rev. de viticult. 1897. No. 162. p. 103—104.)

Patonillard, N., Note sur un cone de pin déformé par une urédinée. (Journ. de botan. 1896. p. 386—388.)

Perraud, J., Le développement du rot blanc. (Vigne franc. 1896. No. 24. p. 371—372.)

Perret, M., Sur l'emploi du cuivre dans les maladies cryptogamiques de la vigne. (Vigne franç. 1897. No. 2. p. 20—21.)

Provvedimenti dell' amministrazione in materia di entomologia agraria, caccia, pesca e piscicoltura dal 1891 al 1896. (Bollett. di notizie agrar. 1897. No. 3. p. 91—109.)

R. et G., Le roncet. (Rev. de viticulture. 1897. No. 162. p. 101—103.)

Rathay, E., Die Ursache und die Kennzeichen des Black-rot. (Allg. Wein-Ztg. 1897. No. 5. p. 50—51.)

Ravaz, L., Contribution à l'étude de la résistance phylloxérique. (Rev. de viticulture. 1897. No. 163, 164, 166. p. 109—114, 137—142, 193—199.)

Rostrup, E., Oversigt over sygdommenes optraeden hos landbrugets avlsplanter i aaret 1895. (Tidsskr. for landbrugets planteavl. 1896. p. 123—150.)

Selby, A. D., Preliminary notes on the diseases of the peach. (Annual rep. of the Ohio State horticult. soc. 1894.)

—, Report on vegetable pathology. (Journ. of the Columbus horticult. soc. 1896.) p. 138—143.)

Slingerland, M. V., Climbing cutworms. (New York Cornell Stat. Bullet. 1896. No. 104. p. 553—600.)

Smith, E. F., The bacterial diseases of plants. A critical review of the present state of our knowledge. (Amer. naturalist. 1897. No. 361. p. 34—41.)

Sorauer, F., Eine eigenthümliche Krankheitserscheinung bei Kakteen. (Mtschr. f. Kakteenkunde. 1897. No. 1. p. 1—4.)

Stuart, W., Fungicides for prevention of corn smut. (Proceed. of the Indiana Ac. of science. 1896. p. 96.)

- Theobald, F. V.**, Die Hopfenschädlinge in England im Jahre 1896. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1897. No. 13. p. 199.)
- Thomas, Fr.**, Schädliches Auftreten von *Halticus saltator* Geoffr. in Deutschland. (Entomol. Nachrichten. 1896. p. 257—259.)
- de Valois**, Rapport sur la situation de la Sicile au point de vue du phylloxéra. Ministère de l'agriculture, direction de l'agriculture. (Bulletin. 1896. No. 5. p. 797—800.)
- Went, F. A. F. C.**, Notes on sugar-cane diseases. (Annals of botany. 1896. Dec. p. 583—600.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Scheurlen u. Spiro**, Die gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Lösungszustand und Wirkungswert der Desinfektionsmittel. (Münch. med. Wchschr. 1897. No. 4. p. 81—84.)
- Wieber**, Desinfektion durch Formaldehyd-Dämpfe. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. 1897. No. 2. p. 46—48.)

### Inhalt.

#### Originalmitteilungen.

- Eriksson, Jakob**, Zur Charakteristik des Weizenbraunrostes. (Orig.), p. 245.
- Freudenreich, Ed. v.**, Ueber die Erreger der Reifung bei dem Emmenthaler Käse. (Orig.), p. 231.
- Henneberg, Wilhelm**, Beiträge zur Kenntnis der Essigbakterien. (Orig.), p. 223.
- Kullmann, W.**, Ueber ein Nitrosobakterium mit neuen Wuchsformen. (Orig.), p. 228.
- Stutzer, A. u. Hartleb, E.**, Der Salpeterpilz. (Orig.) [Forts.], p. 235.
- Wehmer, C.**, Zur Bakteriologie und Chemie der Häringlake I. (Orig.), p. 209.

#### Referate.

- Buchner, Eduard**, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen, p. 251.
- Dammann**, Ein Fall von bitterer Milch und dessen Beseitigung, p. 255.
- Frank**, Bericht über Versuche zur Bekämpfung der Herz- und Trockenfäule der Zuckerrüben im Jahre 1896, p. 256.

**Kobert, Rudolf**, Ueber den Kwaß und dessen Bereitung. Zur Einführung desselben in Westeuropa, p. 253.

**Mattirolo, O.**, Sopra alcune larve micofaghe, p. 258.

**Vuillemin, Paul**, Association du Chaetophoma oleacina et du Bacillus oleae, p. 256.

#### Entwicklungshemmung u. Vernichtung der Bakterien etc.

**Bokorny, Th.**, Beeinflussung der Alkoholgärung durch chemische Substanzen, p. 259.

#### Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Reichsanstalt für Bakteriologie und Pflanzenschutz, p. 260.

Neue Litteratur, p. 269.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg  
herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel**

und

**Prof. Dr. J. H. Vogel,**

Vorsteher der Versuchsstation der Deutschen Landw. Gesellschaft in Berlin.

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 7. Juli 1897.**

**No. 11/12.**

---

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 18 Mark.

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

---

**Original-Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

**Zur Pleomorphismusfrage.**

Von

**Dr. Olav Johan-Olsen,**

Direktor des vom norwegischen Staate subventionierten gährungsphysiologischen Laboratoriums zu Kap bei Mjösen.

Mit 2 Tafeln.

Im Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt. Bd. XX. No. 11 hat Coppen Jones seine seiner Zeit sehr exakt ausgeführte Beobachtung der Mycelbildung von Tuberkelpilzen zu erneuerter Behandlung wieder aufgenommen. Er weist hier nach, daß wir zur Zeit noch zu

Zweite Abt. III. Bd.

18



wenig über diesen Pilz wissen, um denselben als *Mycobacterium* oder mit anderen ähnlichen Namen klassifizieren zu können.

Er schließt seinen Aufsatz mit folgenden Worten, welche ich mir zu zitieren erlaube, da dieselben zum Ausgangspunkt der nachfolgenden Abhandlung, welche ich längere Zeit liegen gehabt habe, dienen können:

„Zwei schwerwiegende Umstände werden gegen eine richtige Auffassung der Frage geltend gemacht: erstens die mächtige Autorität, welche hinter dem Namen „*Bacillus tuberculosis*“ steht, und zweitens die Thatsache, daß die Mykologie, und namentlich die epochemachenden Entdeckungen Brefeld's den meisten Pathologen völlig unbekannt sind.

„Die Zeit wird aber kommen, da wir nicht nur den Tuberkelpilz, sondern wahrscheinlich auch mehrere andere pathogene Pilze als Anpassungsformen höherer Pilze anerkennen müssen, und wo Bakteriologen endlich aufhören werden, jedes beliebige Mikrobion, das als Krankheitskeim auftritt, mit Gewalt in die Reihen eines Cohnschen oder anderer „Formensysteme der Bakterien“ zu zwingen.“

Er schlägt vor, denselben *Tuberculomyces* zu nennen, so wie wir in gleicher Weise auch einen *Actinomyces* haben.

Seine oben angeführte Meinung gehört zu den besten Aussprüchen, die ich in letzter Zeit in der medizinischen Mykologie gesehen habe und giebt meine eigene Meinung so genau wie möglich wieder.

\* \* \*

Wie bekannt, ist nicht nur der Tuberkelpilz nunmehr genötigt, aus dem sog. „echten Bakterien“-Kreis auszutreten, sondern auch — nach Klein, Lehmann u. A. — der Aussatzpilz, sowie der Diphtheritispilz, dem in Lehmann's Lehrbuch der Name „*Corynebacterium*“ gegeben ist, während andere ebensolche wohlklingende andere Namen zuerteilt worden sind.

Ich stimme ganz und gar darin mit Coppen Jones überein, daß es ebensogut ist, den Namen *Actinomyces* zu behalten und bis auf weiteres die neuen *Tuberculomyces*, *Diphtheriomyces* etc. so zu benennen.

---

Coppen Jones weist mit Recht, sowohl in seinem letzten Aufsatze, als auch in seinem Hauptartikel vor 2 Jahren auf Brefeld's epochemachende Arbeiten hin, besonders über Parasitismus und Saprophytismus.

Ich selbst habe auf Aufforderung meines hochgeachteten Lehrers und früheren Chefs Brefeld bereits in den Jahren 1887—1888 darüber Untersuchungen ausgeführt, deren Resultat ich im Jahre 1888 der norwegischen medizinischen Gesellschaft vorlegte (November 1888). Ich äußerte hier bereits die Ansicht, daß die meisten Bakterien nur als Anpassungsformen und nicht als selbständige Species aufgefaßt werden müßten. Diese Auffassung hatte ich speziell durch das

Studium der Actinomycesarten sowie der „Tuberculomyces“ und der damit verwandten Streptothrices erlangt.

Auf der Naturforscherversammlung in Kopenhagen im Jahre 1892 wiederholte ich in meinem Vortrage diese Ansicht (referiert in Koch's Jahrbüchern. 1892. p. 63). 1892 gab ich mein Buch heraus: „Om sop paa levende jordbund“ („Ueber Pilze auf lebendigem Substrate“), worin ich nachwies, daß sowohl Tuberculomyces, wie auch Actinomyces Streptothrixarten wären, worauf diese näher behandelt wurden.

Brefeld hat bekanntlich bereits sehr früh die Ansicht ausgesprochen, daß viele Bakterienformen kaum anderes als Oidienformen wären.

Auf seine Aufforderung hin habe ich, wie erwähnt, die Versuche ausgeführt, welche in dem Buche: „Sop paa levende jordbund“ veröffentlicht worden sind.

Leider haben private Gründe und eine andere Arbeit für den norwegischen Staat (Käsegärung) mich daran gehindert, diese Pilze noch weiter zu verfolgen. Das Folgende ist zum größten Teil ein Resumé diese Buches, das gerade in diesen Tagen ein erneutes Interesse gewinnt.

Der Zweck der Herausgabe meines Buches war, zu beweisen, daß wenn die medizinische Mykologie zu irgend welcher Klarheit über das Leben der pathogenen Pilze und ihre Wirksamkeit außerhalb des Körpers kommen soll, sie vor allem zuerst die Pilze in ihrer Gesamtheit studieren muß, speziell die für Pflanzen pathogenen Arten, um durch Analogieschlüsse Resultate für Menschen und Tiere zu gewinnen.

Es ist ja gut und nützlich, die Wirksamkeit der Mikroben im Körper zu kennen, Gegengifte gegen dieselben zu finden; aber, bevor wir nicht ihr Wesen außerhalb des Körpers kennen lernen, haben wir sie nicht ganz kennen gelernt. Denn es können schließlich auch zu viele Serumarten werden, welche man in sich haben soll.

Jeder Mykologe, der Brefeld's Werke studiert hat — und man kann nicht Mykologe sein, ohne sie zu kennen — weiß, daß der Pleomorphismus in der Natur der Pilze liegt, weiß auch, daß Saprophytismus als eine erworbene Eigenschaft angesehen werden muß.

Brefeld sagt, „daß Parasitismus nichts anderes sein könne, als eine nach der Länge der Zeit mehr oder minder angepaßte und je nach den Einzelfällen verschiedene und eigenartig angepaßte, aber darum noch keineswegs konstant gewordene Lebensform.“

Die am meisten ausgeprägten Fälle von Parasitismus, in welchen die Pilze auf bestimmten Teilen des Wirthes auftreten, sind auch nichts anderes, als das am weitesten vorgeschrittene Stadium dieser selben Anpassung. Diese kann in den entwickeltsten Formen einen äußeren Eindruck davon geben, daß die für diesen Parasiten natürlichen Existenzbedingungen einzig und allein in dieser bestimmten Wirtspflanze oder in bestimmten Teilen derselben vorlagen, und daß alle anderen Lebewesen für ihn ausgeschlossen waren, wie früher geglaubt wurde.

Mit dem Zwecke vor Augen, nachzuweisen, ob nicht auch Pleomorphismus die Regel für einzelne der pathogenen Pilze der Menschen wäre, sowie daß der Parasitismus auch hier ein Adaptationsphänomen sei, führte ich eine Reihe von Untersuchungen aus, zunächst über menschliche parasitische Hyphomyceten, sodann über einzelne Bacillen.

Meine vielen und jahrelangen Untersuchungen über Herpes und Favuspilze zeigten, daß diese beiden auf tierischem Körper unter einer einzelnen sehr verkümmerten Form auftreten können — Oidienformen (Fig. 1, Kalilaugepräparat) — während sie auf einem natürlichen Substrate sich als ein Protobasidiomycetengeschlecht zeigten, dem ich den Geschlechtsnamen *Schoenleinium* gegeben habe, wovon der Favuspilz die eine Art bildet: *Sch. achorion* und der Herpespilz eine etwas andere, aber nicht sehr verschiedene: *Sch. trichophyton* (cfr. Fig. 2—5).

Beide zeigen, nach Brefeld's Prinzipien gezüchtet, daß sie viel besser als Saprophyten, denn als Parasiten gedeihen. Sie bilden außerordentlich reichliche Fruchtkörper, Sklerotien, Chlamydosporen und die schönsten Protobasidien. Sie gedeihen in dem Grade, daß *Sch. trichophyton* eine genierende Luftverunreinigung für viele Kulturen in einem der Laboratoriumszimmer wurde.

Der Soorpilz, *Monilia albicans*, zeigte sich in gleicher Weise pleomorph. Von diesem wurden 2 Arten nachgewiesen, die eine bei kleinen Kindern, welche Erdbeeräther bildet, der gleichzeitig mehrermale in der Milch wiedergefunden worden ist. Außerdem eine andere Art von einem Typhuspatienten, welche ganz andere Gärungsprodukte bildete. Der Kinderpilz zeigte sich als ein *Endomyces*, welcher, saprophytisch gezüchtet, sowohl Ascus als auch Chlamydosporen, Mycel und Gärungskonidien bilden kann. In den Nieren und Lungen von Kaninchen bildet er ein reichliches echtes Mycel, zum Teil mit Gärzellen, welche mit dem Blute von einer Stelle auf die andere übertragen werden können.

Daß gewöhnliche Hyphomyceten, wie *Aspergillus subfuscus* J.-O. in dem tierischen Gewebe als Amöben auftreten können, welche auf das Gewebe einwirken und selbst von Farben beeinflusst werden, ganz wie die Tuberkelpilze, habe ich früher nachgewiesen<sup>1)</sup> (Fig. 6).

Auch Lichtheim<sup>2)</sup> hat die Amöbenbildung bei 2 *Mucor*-arten nachgewiesen.

Auch bei *Actinomyces* zeigte es sich — wie später so Viele nachgewiesen haben —, daß sie ebenfalls nicht dieselben außerhalb des Organismus sind, wie innerhalb. Sie sind saprophytisch gezüchtet, typische *Streptothrices* (*Oospora bovis* Lehmann). Es glückte mir (1889), ein für Kaninchen nicht pathogenes *Actinomyces aureum* nachzuweisen, welches in Gelatine typische Strahlenkolonien bildete, kaum zu unterscheiden von *Act. bovis* innerhalb des Körpers, welches aber in flüssigen Nährmedien

1) Ueber *Aspergillus subfuscus* als Pathogenpilz. (Nordische medizinische Revue. Bd. XVIII. 1886.)

2) Lichtheim, Zeitschrift f. klin. Medizin. 1883.

Bacillen bildete, zuerst ungeästelt, später verästelt mit typischen Luftkonidien.

*Actinomyces aureus* wächst auf gelatinösen Medien wie ein typischer *Streptothrix* mit seinen ausgeprägten Luftkonidien.

Die Strahlenform ist, wie bekannt, nichts Spezifisches für *Actinomyces*, welches ein Wuchsphänomen ist, das wir Mykologen auf beinahe allen Pilzen von *Penicillium glaucum* bis *Tyrophthrix*-Arten kennen. In einzelnen, besonders in zu stark konzentrierten Nährmedien — verschieden für jede Art — treten oft gleiche Strahlenphänomene auf. Eigentümlich ist es, daß beinahe stets Krystalle von verschiedener Art in den Strahlenbündeln abgesetzt werden.

Meine Untersuchungen über den Tuberkelpilz (1887—1888) zeigten, daß auch dieser Pilz keineswegs zu den absolut echten Bacillen zu rechnen ist, nämlich in den Formen, wo die Mycelform noch nicht gefunden ist, sondern am richtigsten zu den baccillären Mycelpilzen: *Streptothrices*, hinzurechnen ist, indem er in hohem Grade den *Actinomyces* gleicht. Ich habe sehr zahlreiche *Streptothriceen* (*Oospora* Lehmann) in Kultur genommen, wozu ich durch meinen Freund Professor Ernst Almqvist ermuntert worden bin. Er war wohl der erste, welcher nachwies, daß Bacillen gefunden wurden, welche eventuell Mycel bilden könnten<sup>1)</sup>.

Im Laufe einiger Jahre nahm ich zahlreiche *Streptothrix*-Arten in Kultur — sowohl parasitäre als saprophytische. Das Studium derselben brachte mich dazu, vollständig mit dem von Brefeld ausgesprochenen Gedanken übereinzustimmen, daß eine Mehrheit von Bakterien nicht selbständige Wesen seien in dem Sinne, daß sie unter Bakterienformen auftreten könnten. Denn eine nähere Untersuchung der Eigenschaften, die es bewirkt haben, daß wir die Bakterien als eine Gruppe für sich zusammengefaßt haben, zeigt, daß sie nicht eine einzige gemeinsame Eigenschaft haben, nicht eine einzige Eigenschaft, welche nicht einer oder der andere der echten Mycelpilze hat. Und schließlich finden wir, daß auch unter den Bakterien selbst so große Verschiedenheiten herrschen, daß wir uns lange bedacht haben würden, größere Pilze in eine Klasse mit so vielen Verschiedenheiten und wechselseitigen Ungleichheiten zusammenzufassen.

Betrachten wir nun kurz die gemeinsamen Eigenschaften: Mangel und Vorhandensein von Zellkernen finden sich bei ihnen durcheinander wie bei den übrigen Pilzen und beruhen freilich auf der Unvollkommenheit unserer eigenen Methoden. Mangel und Vorhandensein von Cilien bei den beweglichen Arten ist gleichfalls nichts den Bakterien Eigenes (cf. *Peronospora*).

Unsere Einteilung derselben ist ja nur eine Einteilung nach Gradverschiedenheiten aus ihrer Neigung zu schneller Teilung.

Weder Zoogloeabildung, Gärungsvermögen, Kleinheit, Selbstbeweglichkeit und das schnelle Wachstum ist für alle Arten gemeinsam:

1) Untersuchungen über einige Bakteriengattungen mit Mycelbildung. (Zeitschrift für Hygiene, 1890, Oktober.)

Man muß zwei Fragen aufstellen:

- 1) Findet man echte Pilze, welche als Bacillen auftreten können?
- 2) Findet man echte Bakterien, welche Mycel bilden oder in anderer Weise echten Pilzen gleichen können?

Werden diese beiden Fragen mit „ja“ beantwortet, so sind die Bakterien nicht als eigene Gruppe aufzufassen.

Von den ersten kann ich den von mir seiner Zeit beschriebenen Klippfisch zerstörenden Pilz *Wallemia ichthyophaga* nennen<sup>1)</sup>, welcher als eine *Sarcina* auftreten kann; bei mehreren *Monilia*-arten kann man im Zweifel sein, ob man sie als *Sarcina* oder Hefekonidien auffassen soll.

Ein in der Milch sehr häufig vorkommender Mikrob ist freilich als ein *Clostridium* beschrieben, während er in Wirklichkeit eine Hefekonidie ist, welche sich teilweise durch Teilung und teilweise durch Knospenbildung vermehren kann. *Schizosaccharomyces* habe ich in Kultur, wovon ich weder Mikrokokken noch Hefekonidien unterscheiden kann.

Die Gleichheit zwischen den sogen. Gärungszellen und den Bakterien wird noch größer, wenn man die sporangientragenden Bacillen studiert, z. B. *Bacillus erythrosporus* J.-O. (cf. Fig. 15).

Er bildet Ascosporen, ebenso typisch wie irgend ein *Saccharomycet*.

*Monilia bacilloides* sieht aus wie echte Bacillen, ist ebenso klein wie diese, kann aber doch echte Hefe bilden (Fig. 22).

Die *Streptothrix*-arten (*Oospora*) sind außerordentlich interessante Formen.

Man kann unter ihnen Uebergänge finden von Formen, welche unzweifelhaft zu den echten Mycelpilzen gerechnet werden müssen, zu solchen Formen, bei denen man nicht im Zweifel darüber sein kann, daß sie von allen Bakteriologen zu den echten Bacillen gerechnet werden.

Von den echten Mycelstreptothrices kann ich die Arten von Gasparini anführen, *Str. Forsteri* und *Str. humifica*, Nocard's *Streptothrix* (*Streptothrix* auf „farcin de boeuf“) u. a. m.

Diese Arten sind sehr klein, haben echte Mycelverzweigung, formen sich teilweise wie Kokken und Bacillen, jedenfalls in dem Grade, daß sie in gefärbten Präparaten mit solchen verwechselt werden können.

Zu einer zweifelhafteren Gruppe rechne ich meine Art *Str. Chondri* (Fig. 18—21), *Actinomyces bovis*, *Str. act. aureum*. Diese haben ein echtes verästeltes Mycel („Ueber Pilze“ p. 94), dünner als die meisten Bakterien.

*Str. Chondri* hat ein Mycel, welches keimen und wachsen kann wie ein echter Hyphenpilz, der in diesem Mycel echte endogene Bakteriensporen mit diesen Sporeneigenschaften und dieser Keimungsweise bilden kann (cf. Fig. 19), Luftkonidien bildet, wie Schoen-

1) Ueber Pilze auf Klippfisch. (Wissenschaftliche Gesellschaft in Christiania. 1886.)

leinium, sich teilen kann und sich zu kurzen krummen Stäben und Kokken formen kann (Fig. 20 und 21).

Wenn ich zu *Str. gelatinosus* J.-O. übergehe sowie dem Tuberkelpilz, so kommen wir den Bakterien noch näher, indem hier die Bacillenformen am häufigsten auftreten. *Bac. gelatin.* ist ein echter *Bacillus*, bestehend aus kurzen, dicken, selbstbeweglichen Bacillen mit endogener Sporenbildung, der aber unter besonderen Umständen ein echtes verästeltes Mycel haben kann.

Er steht in dieser Hinsicht dem *Tuberculo myces* sehr nahe.

---

Hierzu gehören die von mir näher untersuchten *Streptothrix aquatilis*, *Strept. Lemani* (welcher die hier zu Lande wohlbekannte Epidemie bei den Lemmingen hervorbringt), außerdem noch eine Reihe *Cladothrix*arten.

Diese *Streptothrix*arten bilden auf diese Weise eine Art Formenübergang von Mycelpilzen zu echten Bakterien. Sie unterscheiden sich besonders durch ihre Luftkonidien in älteren Kulturen, das fein verzweigte Mycel, sowie durch ihren ausgeprägten Schimmelgeruch, einen Geruch, der sich auch in hohem Grade bei tuberkulösem *Streptothrix* vorfindet und den ältere Chirurgen wohl noch von ihrer Praxis bei tuberkulösen Affektionen in Erinnerung haben.

Daß übrigens auch echte Bakterien Luftkonidien haben können, dafür giebt *Bacillus mycoidis* den besten Beweis (cfr. Fig. 14). Wird derselbe längere Zeit hindurch auf Sand und Kies, welche mit Ernährungsflüssigkeit befeuchtet sind, gezogen, so kriecht der Pilz auf den Stein und bildet hier ein weißes, trockenes Häutchen, welches sich in Wasser nicht untertauchen läßt (Fig. 5a ist ohne Deckglas gezeichnet). Präpariert man das Häutchen vorsichtig, so kann man sehen, daß über den in der Flüssigkeitslage sich befindenden Bacillen sich stark verästelte Pseudohyphen mit kurzen dicken Pseudokonidien erheben, welche außerordentlich leicht abfallen. Sie gleichen einer *Maisbrandmonilia*, sind aber viel kleiner.

Durch Fixation mit Osmiumsäure und Alkohol kann man wahrnehmen, daß alle Konidien kurze, aufgeschwollene, sporenhaltige Bacillen sind, mit einer endogenen Spore in jeder Konidie.

Dasselbe Phänomen kann man wahrnehmen bei einer Reihe von Bakterien, sowohl bei Bacillen, Kokken wie auch Sarcinen. Bei den letzten besonders beim Wachsen auf Kartoffeln.

---

Meine Ansicht geht dahin, daß wir mit Brefeld behaupten können, daß unsere Kenntnis der Bakterien zu gering ist, um irgend ein System zu bilden, daß sie vielmehr nur eine Reihe von Morphen sind, wovon einige jedenfalls als Morphen von bekannten Mycelpilzen gerechnet werden können.

Wir können ihnen keine andere Sonderstellung einräumen, als unter den „unvollständig bekannten Pilzen“. Die Bildung der Bakterien entspricht der für diese Pilze gewöhnlichen Oidien, *Chlamydo-sporen* und *Ascosporen*.

Wir haben überall Analogien. Ein gutes Beispiel eines ähn-

lichen unvollständig bekannten Pilzes ist *Oidium lactis*. Wie man auch diesen Pilz züchten mag, so wird es doch niemals glücken, eine andere Fruktifikation als Oidienteilung hervorzubringen.

Es werden jedoch zahlreiche Oidien gefunden, welche kleiner als *Bac. anthracis* sind, welche man jedoch trotzdem zu den echten Mycelpilzen rechnen muß.

Wir wissen nicht, ob *Oidium lactis* zu dem Basidiomyceten- oder Ascomyceten-Morphencyclus gehört. Brefeld hat bei beiden Reihen Oidien nachgewiesen, welche zu bestimmten Pilzen gehörten, welche auffallend *Oid. lactis* glichen, sowohl von Ascomycetes als von Basidiomycetes.

Daß wir nur für sehr wenige Bakterien Mycelformen gefunden haben und für keine deren wirkliche Fruktifikation, will also ebenso wenig sagen, als daß wir die Fruchtformen nicht gefunden haben, wozu z. B. *Saccharomyces cerevisiae* und *Oid. lactis* gehören. Wir zweifeln bei keinem von diesen mehr, daß sie unter einen Cyklus von anderen Formen gehören.

Wie gesagt: Die Teilung bei den Bakterien ist nur eine Oidienteilung.

Der andere Bildungsmodus, den wir bei den Bakterien gefunden haben, ist die sogenannte endogene Sporenbildung.

Diese hat Brefeld für vollständig identisch mit der bei nahezu allen Pilzarten vorkommenden Chlamydosporenbildung erklärt.

Dieser Fruktifikationsmodus ist, wie bekannt, durch das ganze Reich der Pilze repräsentiert. Man findet ihn bei den *Mucorineae*, wo es sich zeigt, daß er im Grund identisch mit *Oidium*-bildung ist.

Er ist, wie gesagt, am einfachsten noch bei den *Mucorineae*, erreicht seine vollkommenste Form bei den *Uredineae* und bei einzelnen Basidiomyceten wie *Nyctalis* und *Fistulina*. Bei einzelnen *Ptychogaster*-arten steht er auf demselben Standpunkt wie bei den Bakterien.

Die Sporenbildung einzelner Bakterien kommt jedoch der Ascosporenbildung, z. B. *Bac. erythrosporus* J.-O., am nächsten (cfr. Fig. 15).

Bei den meisten ist sie einzig und allein Chlamydosporenbildung.

Ich will hier nicht näher auf die Frage eingehen, obwohl die Ascosporenbildung bei vielen Saccharomyceten auch nur als Chlamydosporenbildung aufzufassen ist.

Daß es jedenfalls Pilze giebt, sehr kleine Hefepilze, welche mit Hefeform, Ascosporenform, Bacillenform mit typischen Bacillensporen auftreten können — und wo gleichzeitig Schimmelpilzform mit echter Mycelbildung nachgewiesen werden kann, dafür kann ich einen näher von mir untersuchten Pilz anführen: *Dematium casei*. Dieser kleine, die Wärme sehr liebende Pilz tritt besonders in norwegischem „Gammelost“ (Altkäse) auf. Er giebt diesem Käse einen bitteren Geschmack, den viele lieben, der aber kaum vorhanden zu sein braucht. Sein Gärungsvermögen ist vollständig wie das von *Duclaux' Tyrothrix tenuis*, welcher übrigens auch eine ähnliche Rolle in demselben Käse spielt. Er gedeiht außerordentlich gut in Milch, bildet echte Hefezellen, bringt im Käse einen bitteren Geschmack hervor, der scharf ammoniakähnlich ist (Fig. 7—13).

In alten Milchkulturen treten längere Fäden auf, die Oidienformen werden häufiger und häufiger. In Würze bilden sich auch Gärungskonidien, aber zugleich auch starke Häute darauf mit Luftkonidien, welche überaus leicht sich mit dem Winde von Ort zu Ort verpflanzen.

Streut man diese Gärungskonidien auf Gypsblöcke, so bilden sich typische Ascosporen. Dieselben kann man übrigens auch in alten Gelatinekulturen finden.

*Dematium casei* wächst ebensogern anaërob wie aërob und in Gelatine und Agar-Agar (mit Glycerinpepton oder Peptonmolke) bildet er ein reichliches Mycel. Ein Teil des Mycels wächst nach unten und breitet sich im Substrat aus, ein Teil erhebt sich in die Luft und bildet hier typische Schimmelfruktifikationen. Diese erhalte ich selten, ohne daß der Pilz zuerst eine Zeit lang anaërob gewachsen ist.

Ausgesät auf flüssige Medien im hängenden Tropfen, bilden sich Oïdien- und Hefeformen übereinander (cfr. Fig. 11). Je älter die Kulturen werden, desto reichlicher wird die Mycelbildung.

In sauren Medien, das erste Mal nachgewiesen in einer schwachen osmiumsauren Ernährungsflüssigkeit, bilden sich nach einiger Zeit, nach ein paar Monaten, immer in den Oïdien ganz typische Bacillensporen, selten zwei in jedem Oïdienteil. In diesem Stadium ist dieser Pilz dem *Bac. megatherium* zur Verwechslung gleich. Ich nahm zu Anfang selbst an, daß dies auf einer Verunreinigung beruhte, da die Kulturen von einem meiner Assistenten gemacht waren. Aber bei einem neuen Versuche fand ich diese Bacillussporenbildung wiederum, nicht allein in osmiumsauren Medien, sondern auch in Fruchtsaftkulturen, in milchsauren Medien, kurz gesagt, in allen alten Kulturen. Es wurden auch Uebergänge von diesen Formen zu Ascosporenformen (cfr. Fig. 13) gefunden. Ich nahm zu Anfang an, daß das möglicherweise eine eigentümliche Fettdegeneration wäre, aber nähere Untersuchungen mit Aetherauszug u. dgl., sowie Färbung zeigte klar genug, daß es Sporen waren. Es glückte mir auch nach vieler Mühe, das Keimen sowohl von diesen wie von Ascosporen von einzelnen fixierten Zellen zu beobachten (Emil Chr. Hansen's Methode) mit Objektmarkierer.

Die Untersuchungen über diesen Pilz werden weiter fortgesetzt und ich hoffe, daß es mir glücken wird, ihn in einer wirklichen Fruchtform unterzubringen, entweder von *Protobasidiomycetes* oder *Protoascoomycetes*.

Er ist auch in chemischer Beziehung außerordentlich interessant, besonders die von ihm ausgesonderten Fermente.

Das gehört jedoch nicht in diese Mitteilung. Was ich hier noch nachweisen will, ist, daß je nähere Kenntnis wir über die Pilze erhalten, desto größere Wahrscheinlichkeit dafür eintreten wird, daß Brefeld's oben citierte Anschauung richtig ist.

Fast alle die Bakterien, welche ich in den letzten Jahren in Kultur gehabt habe, bilden im Laufe der Zeit verästeltes Mycel, jedenfalls alle Bacillen.

Zum wenigsten muß man damit aufhören, es als eine Merk-



würdigkeit hinzustellen, wenn ein oder der andere Bacillus im Laufe der Zeit ein oder zwei Aeste erhält.

Es ist hier nicht die Stelle, näher auf die Fähigkeiten der Bakterien, Amöben zu bilden, einzugehen. Sowohl Thaxter wie ich selbst haben nachgewiesen, daß einzelne Bakterien unter Amöbenform auftreten können, ebenso auch höhere Pilze (*Aspergillus*, *Mucor*). Was ich behaupten will, ist nur, daß die Bakterien als Gruppe den unvollständig bekannten Pilzen zuzurechnen sind, und daß die Wahrscheinlichkeit, daß sie Morphen von anderen sein können, sehr groß ist.

\* \* \*

Man kann fragen: Welche Bedeutung hat es für die Medizin, wenn wir Botaniker, wir Mykologen finden, daß auch die Bakterien der gewöhnlichen Regel folgen, sowohl mit Rücksicht auf Pleomorphismus als auch Parasitismus. Auf den ersten Blick sollte es scheinen, als ob — besonders in unserer serumtherapeutischen Zeit — die Form der Bakterien, des Ansteckungsstoffes, wesentlich von theoretischem Werte sein würde. Ich glaube, daß man, um auch hierüber andere Gesichtspunkte zu erhalten, die Bibel der Mykologen, Brefeld's Werke, etwas näher studieren sollte.

Es ist, wie Coppen Jones ganz richtig bemerkt, rein erstaunlich, wie wenig Kenntnis von diesem epochemachenden Werke man unter den Medizinern findet. Wir Mediziner sind nach meiner Anschauung allzu einseitig. Für uns Aerzte ist es empfehlenswert, sich daran zu erinnern, daß wir die Grundlagen unseres Wissens über die Ansteckungsstoffe im wesentlichen nicht Medizinern schulden, sondern den Chemikern Pasteur und Duclaux, sowie dem Mykologen Brefeld und dem Botaniker Hansen. Koch und Almqvist sind reine Ausnahmen.

Diese beiden Fragen: Pleomorphismus und Parasitismus hängen eng zusammen. Wenn nämlich die Bakterien pleomorph sind, ist es wenig wahrscheinlich, alle in derselben Form wieder zu finden, wie in dem tierischen Körper und in Gelatinekulturen. Das können wir aus Brefeld's Arbeiten über Ustilagineen lernen — eine Arbeit, welche alle Epidemiologen lesen sollten.

Aber wenn man nicht erwarten kann, sie in derselben Form wieder zu finden, dann sind die Beweise gegen Pettenkofer sowohl wie Almqvist's Epidemielehre, die reine botanische Epidemielehre, ziemlich schwach.

Ich kann nicht leugnen, daß vom mykologischen Standpunkte vieles für diese Anschauung spricht: daß das eigentliche Heim des Ansteckungsstoffes der Erdboden oder das Wasser ist, daß sie sich gewöhnt haben, in tierisches oder vegetabilisches Gewebe einzudringen, aber daß sie hier unter anderen Formen auftreten, welche es schwer machen, sie wieder herauszufinden, daß sie, um anzustecken, oft zur Erde zurück müssen und dort erneute Kraft gewinnen, aber daß sie, künstlich in das Blut übergeführt, natürlich auch ihr Dasein als Parasit fortsetzen können.

Daß z. B. der *Typhusbacillus* seinen wesentlichen Zufluchtsort im Erdboden hat, daran zweifle ich keinen Augenblick. Ich

glaube auch, daß der Tuberkelpilz ein Hauspilz ist, der außerhalb des Organismus in feuchten, dumpfigen Räumen wächst.

Mit Milzbrand, Diphtheritis, dem gelben Fieber u. s. w. verhält es sich ebenso.

Es ist möglich, daß es nur Ideen sind, aber die Möglichkeit der Richtigkeit ist nicht ausgeschlossen.

(Einen alten Aberglauben sollte man jedenfalls baldigst ausrotten: daß die Bakterien keine Luftkonidien bilden, sondern einen Fortbeweger zur Verbreitung haben müssen. Zahlreiche Bakterien bilden viele echte Luftkonidien (vgl. Fig. 14), wie die meisten *Streptothrices*, und ich habe durch direkten Versuch gezeigt, daß diese Luftkonidien sich außerordentlich leicht von Ort zu Ort bewegen.)

Kurz und gut, der Gesichtspunkt des Mykologen kann in Hinsicht auf die medizinische Mykologie in folgenden Worten referiert werden:

Alle Pilze zusammen bilden ein Reich für sich, welche sich besonders durch ihren Mangel an sexuellen Fortpflanzungsorganen und durch ihren Pleomorphismus auszeichnen.

Sie sind ziemlich alle mehr oder minder Schmarotzer in dem Sinne, daß sie in der Regel fertig bereitete Nahrung zu sich nehmen.

Einzelne haben außerdem die Fähigkeit adoptiert, sich auf lebendem Substrat ernähren zu können. Diese Fähigkeit ist jedoch nur eine Adaptation, nicht ihr eigentliches Wesen.

In der Regel äußert sich der Pleomorphismus so, daß eine Form, die Hauptform, saprophytisch lebt, auf totem Substrat, eine andere parasitisch.

Kein Pilz kann parasitisch leben in unendlichen Generationen, sondern sie müssen zurück zum saprophytischen Zustand, um ihre Fähigkeit zu erneuern, sich in lebendes Gewebe einzudrängen.

Man muß annehmen, daß das für alle Pilze gilt. Hierzu müssen auch die unter dem Namen „unvollständig bekannte Pilze“ beschriebenen Bakterien gerechnet werden.

Diese nehmen keine Sonderstellung ein, haben keine Sondereigenschaften, welche eine solche bedingen, auch keine von den übrigen Pilzen verschiedene gemeinsamen Eigenschaften und man kann kaum annehmen, daß sie irgend eine Ausnahme von der allgemeinen Regel über Pleomorphismus und Gewöhnung an Schmarotzerlebensweise machen.

Es kann daher die Frage sein, die es wohl wert ist, näher zu erforschen, ob nicht auch die Fähigkeit der pathogenen Bakterien, auf lebendem Substrat zu leben, begrenzt ist, ob nicht auch sie zurück müssen zur saprophytischen Ernährung, um ihre parasitäre Fähigkeit zu erneuern — möglicherweise unter anderen Formen?

Diese Frage wird nun, da die Frage aufgeworfen ist, ob nicht auch die Krebsgeschwülste den pilzlichen Parasiten ihren Ursprung schulden, — entweder Hefepilze oder Amöbenformen von Pilzen, *Myxomycetes*, erneutes aktuelles Interesse erlangen; denn von einer Reihe von Hefen wissen wir, daß sie in der Regel unter verschiedenen Formen gefunden werden können, so daß wir kaum erwarten können, dieselben Pilze, die wir in Geschwülsten gefunden haben, außerhalb des Organismus in derselben Gestalt wieder zu finden, während zur selben Zeit jeder Mykolog sich selbst sagen wird,

daß diese Pilze außerhalb des Organismus wiedergefunden werden müssen.

Aber Brefeld's Versuch hat gezeigt, daß wir auf analytischem Wege mit Züchtungen nicht weit kommen, wir sind auf den schwieriger zu bearbeitenden synthetischen Weg angewiesen. Aber in der Mykologie gilt noch mehr als anderswo: „Per ardua ad astra“.

20. März 1897.

#### Tafelerklärung.

- Fig. 1. Parasitische Form von *Schoenleinium Trichophyton*, Kalliangepräparat,  $\frac{400}{1}$ .  
 Fig. 2. Saprophytische Form desselben, schwach vergrößert,  $\frac{100}{1}$ .  
 Fig. 3. Ein Zweig vom vorigen, stärker vergrößert, ohne Deckglas gezeichnet,  $\frac{500}{1}$ .  
 Fig. 4. Ein anderer, konidientragender Zweig der Fig. 2, mit Deckglas gezeichnet,  $\frac{450}{1}$ .  
 Fig. 5. Clamydosporen aus einer älteren Kultur des *Schoenleinium Trichophyton*,  $\frac{450}{1}$ .  
 Fig. 6. Beginnende Amöbenform des *Aspergillus subfuscus*,  $\frac{1000}{1}$ .  
 7—13 *Dematium casei*.  
 Fig. 7. Hefezellen von *Dematium casei*,  $\frac{800}{1}$ .  
 Fig. 8. Hefezellen dess. mit Luftkonidien,  $\frac{500}{1}$ .  
 Fig. 9. Hefezellen mit Ascosporen ders.,  $\frac{800}{1}$ .  
 Fig. 10. Moniliafruktifikation ders.,  $\frac{800}{1}$ .  
 Fig. 11. Oidienfruktifikation,  $\frac{600}{1}$ .  
 Fig. 12. Schimmelfruktifikation,  $\frac{400}{1}$ .  
 Fig. 13. Bacillenform mit Sporenbildung, Sprossung ders.,  $\frac{800}{1}$ .  
 Fig. 14. Luftkonidien von *Bacillus mycoides*,  $\frac{800}{1}$ ; a frei in Luft, b in Fluidum, c mit Alkohol, d abgefallene Sporen.  
 Fig. 15. Sporen von *Bacillus erythrosporus* J.-O.,  $\frac{800}{1}$ .  
 Fig. 16. Spirillen von *Streptothrix spirilloides* J.-O.,  $\frac{800}{1}$ .  
 Fig. 17. Dieselben abgefallen.

#### 18—21 *Streptothrix Chondri*.

- Fig. 18. Mycel mit Lufthyphen,  $\frac{400}{1}$ .  
 Fig. 19. Mycel mit Clamydosporen von *Streptothrix Chondri*,  $\frac{1000}{1}$ ; a gefärbt, b ungefärbt.  
 Fig. 20. Abgefallene Bacillen mit Sporen ders.,  $\frac{800}{1}$ .  
 Fig. 21. Bacillen,  $\frac{800}{1}$ .  
 Fig. 22. *Monilia bacilloides*,  $\frac{800}{1}$ .

Nachdruck verboten.

## *Pseudomonas campestris* (Pammel). The cause of a brown rot in cruciferous plants.

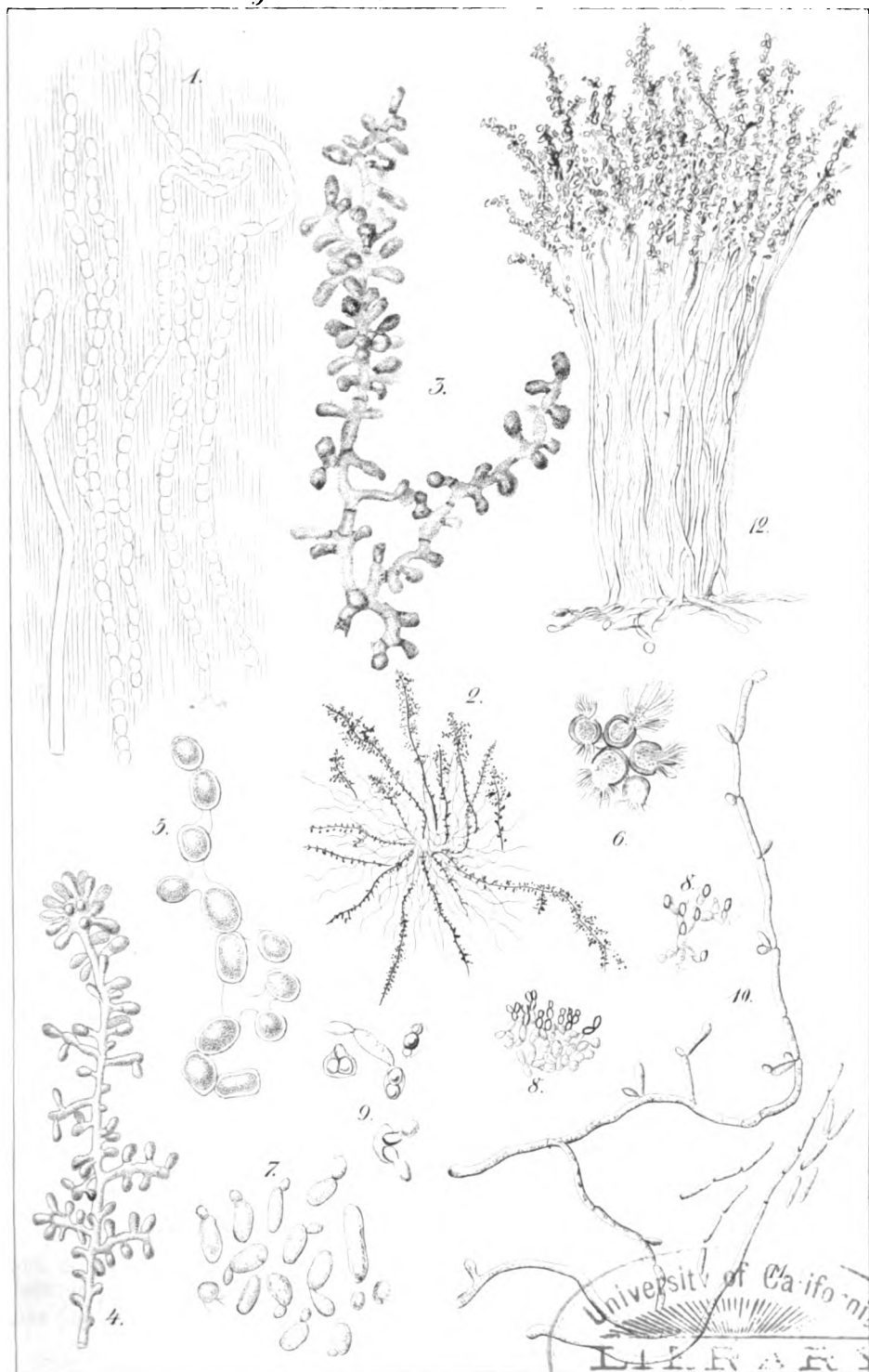
By

Dr. Erwin F. Smith,

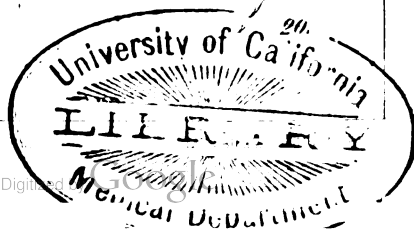
Asst. Pathologist, Division of Vegetable Physiology and Pathology,  
U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C., U. S. A.

With 2 Plates.

What is known already concerning this micro-organism is due to a brief paper by Prof. L. H. Pammel, of Ames, Iowa, entitled *Bacteriosis of Rutabaga* (*Bacillus campestris* n. sp.) and









published by the Iowa Agric. Experiment Station in 1895, as part of Bulletin No. 27 of that Station. He therein described an internal brown rotting of the Rutabaga or Swedish turnip (*Brassica campestris* L.) which had been quite destructive in his vicinity during a rainy autumn, and which was also observed on yellow turnips. This rotting Prof. Pammel ascribed to a yellow micro-organism which he had isolated from the diseased roots, and which produced the same kind of decay when introduced into the interior of healthy Swedish turnip roots. The paper also described very briefly the behavior of this organism in bouillon, in fermentation tubes with cane sugar, on gelatin, agar, potato, and solidified blood serum.

In the following account it is not proposed to give a complete description of this organism but only to make certain observations which will serve to confirm Prof. Pammel's statements respecting its parasitic nature, and to put on record some additional interesting discoveries which I have made within the last half year.

### The Disease.

My attention was first called to this disease in the autumn of 1896, some rough, green-leaved, white turnips (*Brassica campestris* L.) having been sent from Baltimore, Maryland, by Mr. F. G. Stocksdales, a seedsman, who stated that he had sold turnip seed to a farmer, that the whole crop was a failure, and that the farmer attributed this loss to the poor quality of the seed which had been sold to him. The seedsman declared the seeds to have been good and asked in self-defense to have the roots examined. Fig. 1 is a good illustration of the appearance of these turnips. For the most part, they were sound externally but had refused to make bottoms and were brown-rotted internally and usually hollow, the cavities presenting more or less of a radiate structure, alternating portions of the central cylinder of the root persisting longer than the rest of tissue, so that on cross-section the roots somewhat crudely resembled a wagon wheel with the hub removed. Eighteen of these turnips were carefully examined. They bore healthy looking green leaves but the roots had not developed much and in shape resembled small carrots rather than globose or flat-bottomed turnips. In most cases the disease was confined to the central cylinder but in some of them the inner bark was also invaded. In addition to the brown centers there were also watersoaked places whiter than the rest of the root. The browned part of these roots was full of bacteria but not very juicy. In a few cases (not many) I also found a little of a fungus belonging to the form genus *Fusarium* but the cavities were due to the micro-organism and not to the fungus. In the worst specimens the whole interior of the root (middle and upper part) was hollow, about all that was left of the central cylinder being its rim and some of the undestroyed rays already mentioned. Even these badly affected roots were not soft-rotten and it was impossible by squeezing to get much juice out of them, the disease as manifest in these specimens being a sort of slow dry-rot. There were no very distinct symptoms either on the surface of the roots



or in the leaves, and the disease seemed to be nearly at a standstill. From the interior of these roots, proper precautions being taken for granted, I succeeded in isolating a yellow, rod-shaped, motile organism which agreed in most particulars with Prof. Pammel's description.

Soon after, diseased cabbages were received from Dr. J. J. Davis, of Racine, Wisconsin, with the statement that the disease had been prevalent in that vicinity for several years, that in 1896 it caused very heavy losses to the market gardeners around Racine, and that, if the cause were not soon discovered and a suitable remedy found, the growing of cabbages for market would have to be abandoned. The stumps of the cabbages received from Dr. Davis were as represented in Figs. 2 and 3. The vascular ring was stained dark brown and was swarming with bacteria. The leaf traces were also black and occupied by the micro-organisms. The other tissues were sound and normal in appearance except that many of the stumps showed a marked tendency to push short shoots (plate II) but whether this is to be attributed to the stimulus of the presence of the organism or only to the early falling away of large numbers of leaves I am unable to say. In the greenhouse some of the inoculated plants behaved in the same way. The leaves were pale brown or yellowish brown with dark veins. In some places the leaves were fully dry between the veins and they could be handled roughly without leaving any moisture on the fingers being rather leathery in feeling and not at all wet-rotten or ill-smelling. On making cross-sections of any part of such a leaf (and these leaves were several decimeters in breadth indicating that they had not been attacked until they were nearly or quite full grown) the vascular bundles were found to be uniformly dark brown verging on black, and a microscopic examination showed them to be just as uniformly occupied by bacteria, and to an extent I have never seen equalled in any other bacterial disease except the wilt of cucurbitaceous plants, most of the vessels being crowded full. There was also an abnormal and very noticeable increase of chlorophyll around each bundle, this being quite as prominent a feature as the blackening of the bundles. Cultures from several such plants gave in great numbers a yellow organism resembling the turnip germ, and almost nothing else. In a few instances a white organism appeared in small numbers and in one set of plates a few small orange red colonies appeared, both of which were believed to be saprophytic and neglected. No fungi were present. Acting on the supposition that in a fleshy plant like the cabbage a saprophytic wet-rot would be likely to set in subsequent to the attack of any bacterial parasite and that such a decay would greatly confuse any experiments looking toward the determination of the cause of the disease, I requested Dr. Davis to send me only plants in the earliest stages of the disease, and here return him special thanks for two sendings of most excellent material. A stinking wet-rot actually occurs in the fields in the later stages of this disease, as I learned subsequently, and this is probably attributable to one or more white organisms which complete the destruction already begun by the yellow organism and which, while great destroyers of cellulose, are most likely to be

regarded as saprophytes, and must certainly be so regarded until they are shown to possess parasitic tendencies.

Owing to the loss of all his cultures, I could not obtain any of Prof. Pammel's material for comparison, but from a careful study of his paper I have no doubt whatever that the organism isolated from the Baltimore turnips, and under observation in a variety of culture media for the last six months, is the same as that which he named *Bacillus campestris*. Working with this organism I have been able to confirm nearly all of his statements including that most important one respecting its parasitic nature. I have not studied the behavior of this organism on solidified blood serum, but tested in all other ways it agrees with Prof. Pammel's description except in the one particular that it liquefies gelatin. This solitary disagreement in the face of so many important points of agreement I am inclined to explain as due to some oversight of Prof. Pammel, inasmuch as the liquefaction does not proceed very rapidly, and might therefore have been overlooked, particularly if he happened to experiment with a nutrient gelatin not well suited to its growth, e. g. one too salt, or too acid, or too alkaline, or at temperatures too low for its ready growth.

Prof. Pammel's description of the behavior of this organism on the common culture media is rather too brief, and I shall therefore re-describe its behavior on these, and also note its manner of growth on certain others which he did not try. The pathological histology of the disease is also interesting but this lies outside the framework of the present paper, which will deal chiefly with the question of pathogenesis, the symptomatology, the host plants, so far as I have been able to discover them, the manner of infection, the thermal relations of the organism, and its behavior toward various carbohydrates when grown in fermentation tubes, subjects left for the most part untouched by Prof. Pammel.

Several interesting questions arose at the very outset of my inquiries:

- 1) Is the turnip disease due to the yellow turnip germ?
- 2) Is the cabbage disease due to the yellow cabbage germ?
- 3) Are these germs distinct or identical?
- 4) Are either or both the same as Prof. Pammel's *Bacillus campestris*?

No growing plants were at hand for purposes of inoculation and about six weeks elapsed before any suitable ones could be had, from seed. Meanwhile the organisms from the two different sources were grown side by side on a variety of culture media and appeared to be identical.

Finally, plants were ready in abundance and the inoculation experiments commenced. These were begun in November in one of the Department greenhouses, are still in progress, and have been remarkably successful. The plants first used for these experiments were cabbage and kale (*Brassica oleracea* L.); turnip (*Brassica campestris* L.); rape (*Brassica Napa* L.); and the turnip-rooted radish (*Raphanus sativus* L.).

The first series of experiments showed conclusively that the

yellow cabbage germ was parasitic and quite as much at home on kale as on cabbage. It was also able to attack turnip and rape but apparently less readily, these species seeming to be more resistant. As soon as definite results had been obtained a new series of experiments was begun using the yellow turnip germ as the source of the infection. The results were the same and equally successful. Cabbage and kale proved very susceptible while turnip and rape also developed unmistakable symptoms but were decidedly more resistant.

Since these two experiments many others have been made with entirely confirmatory results, more than 60 successful infections having been obtained during the last three months. Pure cultures were used in making these inoculations and from the subsequently and consequently diseased plants, and at long distances from the place of infection, the yellow organism has been re-isolated a number of times, and always with the same cultural characters and pathogenic properties. Often these infections were by means of delicate needle pricks into vigorous leaves or growing stems and Fig. 5 is not more striking than many other cases obtained in this manner.

The following conclusions may therefore be drawn in answer to the questions raised at the outset. 1) The turnip disease is due to the yellow turnip germ; 2) The cabbage disease is due to the yellow cabbage germ; 3) The two organisms are identical so far as can be determined from cross-inoculations; 4) The organism is identical with Prof. Pammel's *Bacillus campestris*. The only possible doubt that remained as to the complete identity of the turnip and cabbage germ has been removed by subjecting the two organisms in parallel series of cultures to a great variety of conditions in all of which they have behaved in the same manner.

The plants experimented upon were 15 to 30 centimeters high and were planted separately in suitable pots. They were in good earth and under healthful conditions, i. e. such as yielded a fine growth of choice carnations and easter lilies. The temperature of the greenhouse was 20° to 26° C by day and a little cooler at night. The progress of the disease was rather slow but this might not hold true in the field with older plants, and even if it did, the ease with which the disease is communicated and re-communicated would more than compensate.

As already stated, cabbage and kale were found to be quite susceptible to this disease while rape and turnip were somewhat resistant. Altogether, I have inoculated 12 turnip plants, all of them by means of delicate needle pricks into the leaf blades, and have obtained infections of the leaves in nearly every instance, but up to this date only two cases of the internal brown rot of the root have appeared. This rot occurred only after many weeks but was entirely typical. A microscopic examination showed the inner, browned tissues of the roots to be swarming with bacteria, and no fungi were to be seen. Finally, from the decayed interior of these roots I succeeded in isolating the yellow germ in great numbers and apparently there was nothing else present. These turnip roots were dwarfed, but white and sound externally. The foliage, however, at the time the roots were removed for examination was dry-shriveled and brown

except the very small central leaves which were flabby, or yellow with brown veins. Radishes were much more resistant than turnips and to such a degree that it is doubtful whether the disease occurs on this plant in nature, the injuries in all cases being restricted to the vicinity of the inoculations while the plants as a whole remained sound. This conclusion, however, is derived from only 13 radish plants, 11 of which were inoculated on the blade of the leaf in the usual manner, and two in the fleshy part of the root. In case of the roots, deep punctures were made with a red hot needle and several loops of a virulent culture inserted. Six weeks after, when the plants were finally pulled up for examination, there were no external indications of disease either in the foliage or in the root, not even about the mouth of the puncture, but a portion of the interior of each root was affected with a dry, brown rot which clearly originated in the punctures. Nine rape plants have been inoculated, by means of needle punctures into leaf or stem, with results much like those obtained from the turnip infections. Most of the plants developed local symptoms and some of them constitutional ones, but none of them have died. It is likely, therefore, that this disease will seriously injure turnips and rape only under exceptional conditions, e. g. during very rainy weather as in the outbreaks described by Prof. Pammel or after very heavy dunging of the fields as in case of the crop of turnips near Baltimore. Cabbage and kale have, however, in these experiments proved so sensitive that when the disease has once gained a foothold in any region I am disposed to think that it is likely to occur in these plants any year and its spread must consequently be guarded against with great care.

The disease was also induced in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *Botrytis*), and in black mustard (*Brassica nigra*).

Fresh cultures inoculated into the leaves or stems of the following plants by means of needle punctures failed to induce any disease: *Hyacinthus albulus*, *Solanum tuberosum*, *Cucumis sativus*, *Nasturtium officinale*, and *Nasturtium Armo-racia*.

Some of the striking characteristics of this disease may be seen at a glance by consulting the colored plate which accompanies this paper. The usual progress of the disease, as studied in the greenhouse, was as follows. The inoculated stems or leaves frequently showed no signs of disease for a week or two, and never any unless living bacteria of this yellow sort were introduced. Punctures with a sterile needle never resulted in any disease. In case of stem inoculations the first distinct sign was an internal browning in the vicinity of the punctures. Subsequently the leaves above the pricked area or at its sides became more or less flabby and yellow with brown veins, as shown in Fig. 5, and finally disarticulated and fell off. A cross-section of the petiole of such leaves, Fig. 6, always showed a deep brown stain in the bundles, and whenever a microscopic examination was made the vessels were seen to have brown walls and to be full of bacteria. The bacteria and the brown staining were often confined strictly to the bundles, as in Fig. 6, but in more advanced

stages of the disease both spread out into the parenchyma of the petioles and also in places, to some extent, into that of the blades of the leaves. This brown staining of the bundles was often visible through the light green of the outer part of the petiole in the form of long, narrow, black streaks, especially when the leaf was held up to the light. Not infrequently the attack on the vessels at the base of the petiole was so sudden and extensive that the leaf became flabby while still green, and unjointed and fell away before the bacteria had time to spread into its upper part and multiply so as to cause yellowing of the parenchyma and blackening of the veins. In case of leaves like Fig. 5, some of the leaf traces on one side of the petiole remained free from the bacteria and were able to supply the leaf with the necessary water for a considerable time. Cases of this kind were frequent.

When the inoculations were made into single leaves the progress of the disease was slower, the downward movement of the bacteria through the veins of the leaf blade into the vessels of the petiole and thence into the stem and the subsequent infection of other leaves requiring in some instances a good many weeks. In many instances, undoubtedly, the needle carried only a few bacteria or none at all into tissues in which they could develop readily and had vessels been punctured the spread of the disease would have been more rapid. Clearly, the juices of the parenchyma are not so well adapted to the needs of the organism as is the fluid inside of the vessels. This was shown very strikingly by the unexpectedly slow spread of the disease when enormous numbers of the organism were injected into the parenchyma of petioles by means of a hypodermic syringe. Another striking feature of the single leaf infections was the slowness of the sidewise movement of the organism from one group of bundles into another after the germs had passed down the petiole of the inoculated leaf and entered the stem. From this it is quite clear that in *Brassica oleracea* var. *capitata* certain leaves are fed by certain groups of bundles and have little or no connection with leaves on opposite sides of the stem. Probably this is true of many plants but it is brought most strikingly into evidence in case of diseases due to bacteria which show a great fondness for the alkaline sap of the vessels and little attraction toward the acid parenchyma which separates one group of bundles from another. In case of some of the stem inoculations in the cabbage, the leaves on the pricked side fell off with the characteristic symptoms while those on the opposite side remained healthy. In one cabbage plant of this sort all of the leaves but one upper leaf on the opposite side fell away and it seemed as if the plant must die, but gradually a half dozen new leaves developed from the terminal bud and remained healthy for a long time, but were dwarfed on the inoculated side of the stem. After two months, symptoms have again appeared in the foliage but at this writing are confined to one leaf on the punctured side of the stem, the very characteristic yellowing and black veining now involving about  $\frac{1}{4}$  of the leaf blade (the basal part on one side). It is 3 months since the plant was inoculated and  $2\frac{1}{2}$  months since the first symptoms appeared. This would indicate either a dying out of the bacteria in

the tissues or what is more likely the development of new leaves out of leaf traces not yet affected and into which the bacteria already in the stem were able to penetrate only after much difficulty. Similar cases may be observed in the field. This leads to another observation namely, that dwarfing is a common symptom of this disease. None of the cabbage or kale plants which I have infected have been destroyed outright. This dwarfing is a common occurrence in the field. When attacked early and not destroyed outright, the cabbage grows very slowly, loses many leaves, and fails to make a head (see Plate II) while the turnip grows with equal slowness and refuses to make any bottom (Fig. 1). Possibly lack of sufficient aeration is a cause of the slow sidewise movement of the organism in the stem and the reason why the plants are not quickly destroyed (see fermentation tube experiments) or perhaps it may be due to a cutting off of the water supply. It is certain that the vessels which are invaded become crowded very full of the organism and it would seem that neither air nor water could pass through them very readily. In many cases one per cent eosin water will not pass up at all, or, when only part of the bundles of a petiole are affected, will pass up some bundles and not others according as they are or are not invaded by the organism. This may be due simply to plugging, or to disorganization of the walls of the vessels, or to both. To determine positively will require more study than I have yet been able to give to it.

(Conclusion is follow.)

*Nachdruck verboten.*

## Neue Beobachtungen über die Natur und das Vorkommen des Kronenrostes.

Von

Prof. Dr. Jakob Eriksson

in

Stockholm.

Infolge der bis zum Ende des Jahres 1894 vorliegenden Untersuchungen (Eriksson, I. p. 321—322) konnte man vom Kronenroste (*Puccinia coronata* Corda) folgende spezialisierte Formen unterscheiden:

### Serie I. *Aecidium* auf *Rhamnus cathartica* (*Puccinia coronifera* Kleb.).

- 1) f. sp. *Avenae* auf *Avena sativa*,
  - 2) „ „ *Alopecuri* auf *Alopecurus pratensis*,
  - 3) „ „ *Festucæ* auf *Festuca elatior*, und
  - 4) „ „ *Lolii* auf *Lolium perenne*,
- außer der in Deutschland beobachteten Form auf *Avena elatior* und einer solchen auf *Holcus lanatus*, über deren Spezialisierungsgrad man noch nichts wußte.

**Serie II. *Aecidium* auf *Rhamnus Frangula*  
(*Puccinia coronata* Kleb.).**

**5) f. sp. *Calamagrostis* auf *Calamagrostis arundinacea*  
(und *C. lanceolata*),**

außer den Formen auf *Dactylis glomerata*, *Festuca silvatica* (? *P. gibberosa* Lagh.), *Agrostis vulgaris*, *Holcus lanatus* (und vielleicht auf *H. mollis* und *Phalaris arundinacea*), alle diese Formen mit Rücksicht auf ihre Spezialisierung noch nicht untersucht.

**Serie III. *Aecidium* auf *Rhamnus dahurica*  
(*Puccinia coronata* var. *himalensis* Barcl.).**

Hier hätte man die indischen Formen auf *Brachypodium silvaticum* (*Piptatherum holciforme* und *Festuca gigantea*) aufzunehmen.

**Serie IV. *Aecidium* unbekannt. (Fehlt?)**

**6) f. sp. *Melicae* auf *Melica nutans*.**

Die Richtigkeit der Auffassung von f. sp. *Avenae*, f. sp. *Lolii* und f. sp. *Calamagrostis* ist später durch neue Versuche von Klebahn (V. p. 328—330) bestätigt worden, und auf Grund dieser Versuche ist außerdem eine neue spezialisierte Form, f. sp. *Phalaridis*, auf *Phalaris arundinacea* aufgestellt worden.

Inwiefern diese auf Grund der Infektionsversuche mit dem Pilze in seinem Uredostadium unterschiedenen Formen sämtlich durchaus verschieden sind, also auch im *Aecidium*stadium, das konnte man nach den bis Ende 1894 vorliegenden Versuchen nicht sicher entscheiden. Von den 2 damals vorliegenden Versuchen in fortlaufenden Generationen (Eriksson, I. p. 325) zeigte nämlich der eine, mit f. sp. *Festucae* ausgeführt, einen durchgängigen Unterschied dieser Form von derjenigen auf Hafer an, während der andere, mit f. sp. *Alopecuri* ausgeführt, Resultate ergab, die einen solchen Unterschied der Form des Wiesenfuchsschwanzes und der des Hafers widersprachen oder wenigstens an einem derartigen Unterschied Zweifel erregte.

Unter solchen Umständen waren fortgesetzte und umfassendere Versuche mit verschiedenen Formen von Kronenrost in hohem Grade wünschenswert. Solche haben auch in den beiden letzten Jahren, 1895 und 1896, in recht großem Umfange stattgefunden. In dem erstgenannten Jahre geschahen die Versuche nur mit solchen Formen, die in der Umgegend von Stockholm vorkommen. In den Versuchen des Jahres 1896 konnten aber auch mehrere Formen aus anderen Orten mitgenommen werden, welche Formen auf mein Ersuchen am Ende des Jahres 1895 gütigst zu meiner Disposition gestellt wurden von Dr. P. Dietel in Reichenbach i. V. (Sachsen), Dr. O. Juel in Upsala, Prof. G. Linhart in Ungarisch-Altenburg, Prof. P. Magnus in Berlin und Direktor R. Tolf in Jönköping.

Den Gang und die Ergebnisse der in den beiden Jahren ausgeführten, positiv ausgefallenen Versuche sieht man aus untenstehender Tabelle I.

Infektionsversuche mit *Puccinia coronata* auf *Rhamnus cathartica*  
 und *Rh. frangula* 1895 und 1896.

Tabelle I.

Infektions- tions-  No. Tag		Infektionsmaterial				Infizierte Pflanzen		Die Zahl der Infektionsstellen	Resultat <sup>2)</sup>					
		Herkunft		Keim- fähig- keit <sup>1)</sup>		Art	Zahl		+	Zahl der Rost- flecken mit		Inkubations- dauer in Tagen der		
										Wirts- pflanze	Einsamm- lungsort	Grad nach Stunden	Sperma- gonien	Aeci- dium
1	18. V.	<i>Festuca elatior</i>	Stockholm	4	14	<i>Rh. cathartica</i>	60	+	54	52	7—30	26—		
2	"	<i>Festuca elatior</i>	Stockholm	4	18	<i>Rh. cathartica</i>	47	+	47	47	7—17	26—		
3	27. V.	<i>Phalaris arundinacea</i>	Ungarn	4	23	<i>Rh. cathartica</i>	5	48	—					
4	"	do.	"	4	23	" <i>Frangula</i>	5	27	+	27	27	11	19	
5	"	do.	"	4	23	" "	1	14	+	14	14	11	19	
6	28. V.	<i>Glyceria aquatica</i>	Ungarn	4	22	<i>Rh. cathartica</i>	5	44	+	35	34	10—18	18—24	
7	"	do.	"	4	22	" <i>Frangula</i>	5	23	—					
8	"	do.	"	4	22	" "	1	13	—					
9	28. V.	<i>Calamagrostis arundinacea</i>	Jönköping	3	34	<i>Rh. cathartica</i>	5	33	—					
10	"	do.	"	3	34	" <i>Frangula</i>	5	23	+	23	23	10	18	
11	"	do.	"	3	34	" "	1	9	+	9	9	10	18	
12	1. VI.	<i>Calamagrostis arundinacea</i>	Falun	4	5	<i>Rh. cathartica</i>	5	38	—					
13	"	do.	"	4	5	" <i>Frangula</i>	5	22	+	22	22	6	19	
14	"	do.	"	4	5	" "	1	21	+	21	21	10	19	
15	2. VI.	<i>Alopecurus nigricans</i>	Stockholm	4	14	<i>Rh. cathartica</i>	44	+	40	40	9	13—20		
16	"	do.	"	4	14	" <i>Frangula</i>	16	—						
17	2. VI.	<i>Festuca elatior</i>	Stockholm	4	13	<i>Rh. cathartica</i>	39	+	38	38	9—13	18		
18	2. VI.	<i>Calamagrostis arundinacea</i>	Falun	4	22	<i>Rh. Frangula</i>	13	+	13	13	9	22		
19	2. VI.	<i>Triticum repens</i>	Ungarn	2	36	<i>Rh. cathartica</i>	5	37	—					
20	"	do.	"	2	36	" <i>Frangula</i>	5	21	+	20	20	9—13	22	
21	"	do.	"	2	36	" "	1	20	+	9	9	9—22	22—43	
22	7. VI.	<i>Phalaris arundinacea</i>	Ungarn	4	26	<i>Rh. cathartica</i>	1	22	—					
23	"	do.	"	4	26	" <i>Frangula</i>	5	44	+	33	33	8—17	17—38	
24	8. VI.	<i>Agrostis vulgaris</i>	Stockholm	2	69	<i>Rh. cathartica</i>	1	18	—					
25	"	do.	"	2	69	" <i>Frangula</i>	1	15	+	2	2	16	31	

1) Es werden hier 4 Keimfähigkeitsgrade unterschieden: 0 = keine, 1 = Spur von, 2 = sparsame, 3 = recht allgemeine und 4 = allgemeine Keimung.

2) Es bedeuten: + = sicher positiv, (+) = unsicher positiv und — = sicher negativ.



Stellt man die so gewonnenen Resultate mit den ähnlichen, früher bekannten, sowie mit einigen im Jahre 1896 von Klebahn (VI. p. 331—332) neugewonnenen zusammen, so findet man, für die zu der Serie I (*Puccinia coronifera* Kleb.) gehörenden Formen, die Thatsachen, welche aus der Tabelle II ersichtlich sind.

Uebersicht der bis jetzt mit *Puccinia coronata* Corda, Serie I (*Puccinia coronifera* Kleb.) ausgeführten Infektionsversuche.

Tabelle II.

Infektionsmaterial  von	Uebergeliefert  auf	Resultat der Versuche									
		am Experimentalfelde						an anderen Orten			
		Die Zahl der						Die Zahl der Versuchsnummer	Versuchsansteller		
		Versuchsnummer			In- fektionsstellen						
		+	(+)	—	+	(+)	—			+	—
<b>Avena sativa</b>	Rh. cathartica	4	1	.	34	11	67	3	.	{Klebahn, V. p. 328. Schröter, I. p. 31.	
" "	" grandifolia	.	1	.	.	7	11	.	.		
" "	" alnifolia	.	1	.	.	1	23	.	.		
" "	" Frangula	.	.	3	.	.	70	.	2	{Klebahn, V. p. 328. Schröter, I. p. 31.	
<b>Alopecurus pratensis</b>	Rh. cathartica	4	.	.	37	12	19	.	.		
" "	" Frangula	.	.	2	.	.	33	.	.		
<b>Alopecurus nigricans</b>	Rh. cathartica	1	.	.	40	.	4	.	.	{Klebahn, VI. p. 331.	
" "	" Frangula	.	.	1	.	.	16	.	.		
<b>Festuca elatior</b>	Rh. cathartica	5	.	.	165	.	15	1	.	Klebahn, VI. p. 331.	
" "	" Frangula	.	.	2	.	.	18	.	.		
<b>Glyceria aquatica</b>	Rh. cathartica	1	.	.	34	.	10	.	.	{Plowright, I. p. 164. Klebahn, I. p. 338. II. p. 199. Fischer, I. p. 2.	
" "	" Frangula	.	.	2	.	.	36	.	.		
<b>Lolium perenne</b>	Rh. cathartica	.	.	.	.	.	.	3	.	{Klebahn, IV. p. 152. V. p. 331.	
" "	" Frangula	.	.	.	.	.	.	3	.		
<b>Holcus lanatus</b>	Rh. cathartica	.	.	.	.	.	.	1	.		
" "	" Frangula	.	.	.	.	.	.	3	.		
<b>? Avena elatior</b>	Rh. cathartica	.	.	.	.	.	.	2	.	{Klebahn, III. p. 129.	
" "	" Frangula	.	.	.	.	.	.	2	.		

Es ist also experimentell bewiesen, daß zu dieser Serie die Kronenrostformen folgender 7 Gräser zu rechnen sind: *Alopecurus pratensis*, *A. nigricans*, *Avena sativa*, *Festuca elatior*, *Glyceria aquatica*, *Holcus lanatus* und *Lolium perenne*, und wahrscheinlich auch *Avena elatior*.

Für die zweite Serie der Kronenrostformen (*P. coronata* Kleb.) stellt sich die Sache so, wie aus der Tabelle III erscheint.

Uebersicht der bis jetzt mit *Puccinia coronata* Corda, Serie II  
 (*Puccinia coronata* Kleb.) ausgeführten Infektionsversuche.

Tabelle III.

Infektionsmaterial von	Uebergeführt von	Resultat der Versuche					
		am Experimentalfältet		an anderen Orten			
		Die Zahl der		Die Zahl der	Versuchsnummer	Versuchsansteller	
		Versuchsnummer	Infektionsstellen				
		+	-	+	-		
<i>Agrostis vulgaris</i>	Rh. <i>Frangula</i>	1	.	2	13		
" "	" <i>cathartica</i>	.	1	.	27		
<i>Calamagrostis arundinacea</i>	Rh. <i>Frangula</i>	5	.	88	.	7	} Klebahn, III. p. 129.
" "	" <i>cathartica</i>	.	2	.	71	.	
<i>Calamagrostis lanceolata</i>	Rh. <i>Frangula</i>	.	.	.	.	2	} Klebahn, V. p. 329.
" "	" <i>cathartica</i>	.	.	.	.	1	
<i>Dactylis glomerata</i>	Rh. <i>Frangula</i>	.	.	.	.	1	} Plowright, I. p. 164.
<i>Festuca silvatica</i>	Rh. <i>Frangula</i>	.	.	.	.	1	
<i>Holcus mollis</i>	Rh. <i>Frangula</i>	.	.	.	.	2	} Klebahn, IV. p. 151.
" "	" <i>cathartica</i>	.	.	.	.	1	
<i>Phalaris arundinacea</i>	Rh. <i>Frangula</i>	3	.	74	.	3	} Klebahn, IV. p. 151. V. p. 330. VI p. 331.
" "	" <i>cathartica</i>	.	2	.	70	.	
<i>Triticum repens</i>	Rh. <i>Frangula</i>	2	.	29	12		
" "	" <i>cathartica</i>	.	1	.	37		

Zu dieser Serie kann man also die Formen folgender 8 Gräser rechnen: *Agrostis vulgaris*, *Calamagrostis arundinacea*, *C. lanceolata*, *Dactylis glomerata*, *Festuca silvatica*, *Holcus mollis*, *Phalaris arundinacea* und *Triticum repens*.

Mit denjenigen Formen, von denen hinreichendes Material für die Kultur in fortlaufenden Generationen zur Verfügung stand, wurden solche Kulturen angeordnet. Ueber die Beschaffenheit und den Verlauf derselben giebt die Tabelle IV einen Ueberblick.

Infektionsversuche mit *Puccinia coronata*

Tabelle

Puccinia			Aecidium		Ure									
Infektions-  Serie		Tag	Die Herkunft des Infektions- materials	Die Infektion ausgeführt auf	Zahl der Infektionsstellen	Generation 1						Zahl der Infektionsstellen		
						Infektions-  No.		Tag	Keimfähigkeit des Materials  Grad nach Stunden		Infizierte Pflanzen		Art	Zahl
1895														
I. (Tab. I. No. 1)	18. V.	Festuca elatior	Rh. cathartica	52	1	15. VI.	2	22	Avena sativa	3	26			
2					"	2	22	Alopecurus pratensis	4	42				
3					"	2	22	Festuca elatior	4	25				
1896														
II. (Tab. I. No. 9—11)	28. V.	Calamagrostis arundinacea	Rh. Frangula ,, cathartica	23	4	19. VI.	3	34	Triticum repens	3	26			
5					"	3	34	Agrostis stolonifera	3	25				
6					"	3	34	Phalaris arundinacea	3	21				
7					"	3	34	Calamagrostis arundinacea	3	28				
III. (Tab. I. No. 3—5)	27. V.	Phalaris arundinacea	Rh. Frangula ,, cathartica	27	8	20. VI.	3	19	Agrostis stolonifera	3	25			
					9	"	3	19	Triticum repens	3	23			
					10	"	3	19	Calamagrostis arundinacea	3	30			
IV. (Tab. I. No. 6—8)	28. V.	Glyceria aquatica	Rh. cathartica ,, Frangula	34	11	"	3	19	Phalaris arundinacea	3	28			
					12	22. VI.	3	15	Avena sativa	3	22			
					13	"	3	15	Alopecurus pratensis	3	24			
					14	"	3	15	Festuca elatior	3	30			
V. (Tab. I. No. 15—16)	2. VI.	Alopecurus nigricans	Rh. cathartica ,, Frangula	40	15	"	3	15	Glyceria aquatica	3	40			
					16	23. VI.	1	25	Avena sativa	3	23			
					17	"	1	25	Festuca elatior	3	29			
					18	"	1	25	Glyceria aquatica	3	38			
VI. (Tab. I. No. 17)	2. VI.	Festuca elatior	Rh. cathartica	38	19	"	1	25	Alopecurus pratensis	3	37			
					20	25. VI.	3	21	Avena sativa	3	16			
					21	"	3	21	Alopecurus pratensis	3	25			
VII. (= II.)	28. V.	Calamagrostis arundinacea	Rh. Frangula ,, cathartica	23	22	"	3	21	Festuca elatior	3	30			
					23	20. VII.	4	5	Phalaris arundinacea	3	30			
					24	"	4	5	Calamagrostis arundinacea	3	39			

1) Die auf *Phalaris* hervortretenden Uredopusteln waren nach 26 Tagen (am 15. Juli) äußerst klein; jeder Fleck hatte nur 1—2 Pusteln, die auch nach 36 Tagen (am 25. Juli) gering an Zahl, 2—4, klein und in Reihen geordnet waren. Man kann kaum bezweifeln, daß sie aus der gemachten Infektion stammten.

2) Die nach 35 Tagen (am 25. Juli) vorhandenen 2 Pustelflecken trugen beide zahlreiche Pusteln, in eine große Gruppe geordnet, und nach 46 Tagen (am 5. August) fand sich *Puccinia* an den meisten Stellen. Sie werden unsweifelhaft aus der ausgeführten Infektion entstanden sein.

in fortlaufenden Generationen 1895 und 1896.

IV.

do

[illegible]

3) Unter den nach 41 Tagen (am 5. August) vorhandenen 6 Pustelflecken fanden sich 3 gerade an den infizierten Stellen, die 3 anderen aber recht weit (15—25 mm) von solchen Stellen entfernt. Die letzteren Flecken geben zu dem Verdachte Anlaß, entweder daß ein innerer Krankheitsstoff in den Pflanzen, als diese am 5. Mai aus dem Freien verpflanzt wurden, vorhanden gewesen ist, oder daß ganz unabsichtlich durch Fliegen oder dergl. fremder Krankheitsstoff aus in demselben Zimmer befindlichen Infektionsnummern (*Rhannus cathartica*, Tab. I. No. 15, oder *Alopecurus pratensis*, Tab. IV. No. 19), welche f. sp. *Alopecuri* trugen, hat entstehen können.

Eine Zusammenstellung der hierdurch erworbenen Resultate mit den früher bekannten, sowie mit den von Klebahn (VI. p. 332) im Jahre 1896 neu veröffentlichten, zeigt die Tabelle V.

Übersicht der bis jetzt mit *Puccinia coronata* in fortlaufenden Generationen ausgeführten Infektionsversuche.

Tabelle V.

Infektion			Resultat der Versuche					
			am Experimental- fältet			an anderen Orten		
			Die Zahl der		Ver- suchs- nummer	Die Zahl der Ver- suchsnummer	Versuchsansteller	
			Versuchs- nummer	In- fektions- stellen				
von	mit	auf	+	(+)	—	+	(+)	—
<b>Avena sativa</b>	<b>Rh. cathartica</b>	<b>Avena sativa</b>	.	.	.	1	.	.
do.	do.	Dactylis glomerata	.	.	.	2	.	.
do.	do.	Festuca elatior	.	.	.	1	.	.
do.	do.	Holcus lanatus	.	.	.	1	.	.
do.	do.	Holcus mollis	.	.	.	1	.	.
do.	do.	Lolium perenne	.	.	.	2	.	.
<b>Alopecurus pra- tensis</b>	do.	<b>Alopecurus pratensis</b>	1	.	15	3	.	.
do.	do.	Avena sativa	.	1	1	3	32	.
<b>Alop. nigricans</b>	do.	<b>Alopecurus pratensis</b>	1	.	37	.	.	.
do.	do.	Avena sativa	.	.	1	23	.	.
do.	do.	Festuca elatior	.	.	1	29	.	.
do.	do.	Glyceria aquatica	.	.	1	38	.	.
<b>Festuca elatior</b>	do.	<b>Festuca elatior</b>	3	.	56	10	1	.
do.	do.	Alopecurus pratensis	.	1	1	6	61	.
do.	do.	Avena sativa	.	.	3	56	.	.
do.	do.	Holcus lanatus	.	.	.	.	1	.
do.	do.	Holcus mollis	.	.	.	.	1	.
do.	do.	Lolium perenne	.	.	.	.	1	.
<b>Glyceria aqua- tica</b>	do.	<b>Glyceria aquatica</b>	1	.	40	.	.	.
do.	do.	Avena sativa	.	.	1	22	.	.
do.	do.	Alopecurus pratensis	.	.	1	24	.	.
do.	do.	Festuca elatior	.	.	1	30	.	.
<b>Lolium perenne</b>	do.	<b>Lolium perenne</b>	.	.	.	.	1	.
<b>Holcus lanatus</b>	do.	<b>Holcus lanatus</b>	.	.	.	.	1	.
do.	do.	Holcus mollis	.	.	.	.	1	.
do.	do.	Festuca elatior	.	.	.	.	1	.
do.	do.	Lolium perenne	.	.	.	.	1	.
<b>Calamagrostis arundinacea</b>	<b>Rh. Frangula</b>	<b>Calamagrostis arun- dinacea</b>	2	.	46	21	.	.
do.	do.	Phalaris arundi- nacea	1	.	1	6	45	.
do.	do.	Agrostis stolonifera	.	.	1	25	.	.
do.	do.	Triticum repens	.	.	1	26	.	.
<b>Calamagrostis lanceolata</b>	do.	<b>Calamagrostis lan- ceolata</b>	.	.	.	.	1	.
do.	do.	Phalaris arundinacea	.	.	.	.	2	.
do.	do.	Festuca silvatica	.	.	.	.	1	.
do.	do.	Holcus lanatus	.	.	.	.	2	.
do.	do.	Holcus mollis	.	.	.	.	2	.

Klebahn, V. p. 328.

Klebahn, VI. p. 332.

Klebahn, VI. p. 332.

Klebahn, V. p. 329.

Klebahn, VI. p. 332.

Klebahn, V. p. 329.

Infektion			Resultat der Versuche					
			am Experimental- fältet			an anderen Orten		
			Die Zahl der		Die Zahl der Ver- suchsnummer	Versuchsansteller		
			Versuchs- nummer	In- fektions- stellen				
von	mit	auf	+	(+)	—	+	(+)	—
Phalaris arun- dinacea	Rh. Frangula	Phalaris arundi- nacea	1	.	28	.	2	.
do.	do.	Calamagrostis arun- dinacea	1	.	4	.	26	1
do.	do.	Agrostis stolonifera	.	.	1	.	25	.
do.	do.	Agrostis vulgaris	.	.	.	.	.	1
do.	do.	Holcus lanatus	.	.	.	.	.	1
do.	do.	Holcus mollis	.	.	.	.	.	2
do.	do.	Triticum repens	.	.	.	.	.	1
Holcus sp.	do.	Holcus lanatus	.	.	.	.	1	.
do.	do.	Holcus mollis	.	.	.	.	1	.

Der Gang und die Resultate einiger Infektionsversuche mit gewissen Formen in ihrem Uredostadium, welche Versuche in den beiden Jahren geschahen, sind aus der Tabelle VI zu sehen.

Infektionsversuche mit *Uredo coronata* 1895 und 1896.

Tabelle VI.

Infektions- tions-  No.		Infektionsmaterial		Infizierte Pflanzen		Zahl der Zahl der Infektionsstellen	Resultat										
		Herkunft	Keim- fähig- keit				Zahl der Rostflecken nach Stunden										
			Tag		Grad		nach Stunden	Art	Zahl	+	—	—	—	—	—	—	—
1895																	
1	12. IX.	Avena sativa	3	2	Avena sativa	3	26	+	.	26							
2	14. IX.	Agrostis vulgaris	4	20	Avena sativa	3	24	+									
3	14. IX.	Agrostis vulgaris	3	3	Festuca elatior	3	26	—									
4	"	" "	3	3	Lolium italicum	3	23	—									
5	"	" "	3	3	Agrostis stolonifera	4	30	—	.	.	11	.	15	15			
1896																	
6	20. VII.	Phalaris arundinacea	4	6	Calamagrostis arundinacea	3	27	—									
7	"	" "	4	6	Phalaris arundinacea	3	24	+	14	.	.	.	.	24			
8	7. VIII.	Festuca elatior	4	17	Avena sativa	3	24	—									
9	"	" "	4	17	Alopecurus pratensis	3	21	—									
10	"	" "	4	17	Glyceria aquatica	3	34	—									
11	"	" "	4	17	Festuca elatior	3	30	+	.	30							
12	7. VIII.	Glyceria aquatica	4	6	Avena sativa	3	20	—									
13	"	" "	4	6	Festuca elatior	3	34	—									
14	"	" "	4	6	Glyceria aquatica	2	23	+	.	21	.	23					
15	10. IX.	Calamagrostis Epigeios	4	4	Calamagrostis arundinacea	3	39	—									

Eine Uebersicht dieser Resultate, mit ähnlichen früher bekannten zusammengestellt, findet man in der Tabelle VII.

Uebersicht der bis jetzt mit *Uredo coronata* ausgeführten Infektionsversuche.

Tabelle VII.

Infektionsmaterial  von	Uebergeführt  von	Resultat der Versuche					
		am Experimentalfältel		an anderen Orten			
		Die Zahl der		Die Zahl der	Versuchsnummer	Versuchsansteller	
		Versuchsnummer	Infektionsstellen				
		+	-	+	-	+	-
<i>Avena sativa</i>	<i>Avena sativa</i>	2	.	27	1		
" "	" elatior	.	.	.	.	1	
" "	<i>Festuca elatior</i>	.	.	.	.	1	
" "	<i>Holcus lanatus</i>	.	.	.	.	1	
" "	" mollis	.	.	.	.	1	
" "	<i>Lolium perenne</i>	.	.	.	.	2	
<i>Alopecurus pratensis</i>	<i>Alopecurus pratensis</i>	2	.	15	.		
" "	<i>Avena sativa</i>	.	3	.	35		
<i>Festuca elatior</i>	<i>Festuca elatior</i>	4	.	52	9		
" "	<i>Alopecurus pratensis</i>	.	2	.	37		
" "	<i>Avena sativa</i>	.	4	.	53		
" "	<i>Glyceria aquatica</i>	.	1	.	34		
" "	<i>Lolium perenne</i>	.	1	.	14	(1)	
<i>Glyceria aquatica</i>	<i>Glyceria aquatica</i>	1	.	23	.		
" "	<i>Avena sativa</i>	.	1	.	20		
" "	<i>Festuca elatior</i>	.	1	.	34		
<i>Lolium perenne</i>	<i>Lolium perenne</i>	1	1	3	22		
" "	<i>Avena sativa</i>	.	.	.	.	1	
" "	<i>Festuca elatior</i>	.	.	.	.	1	
" "	<i>Holcus lanatus</i>	.	.	.	.	1	
<i>Agrostis vulgaris</i>	<i>Agrostis stolonifera</i>	1	.	15	15		
" "	<i>Avena sativa</i>	.	1	.	24		
" "	<i>Festuca elatior</i>	.	1	.	26		
" "	<i>Lolium italicum</i>	.	1	.	23		
<i>Calamagrostis arundinacea</i>	<i>Avena sativa</i>	.	2	.	5		
" lanceolata	<i>Festuca silvatica</i>	.	.	.	.	1	
" "	<i>Holcus lanatus</i>	.	.	.	.	1	
" "	" mollis	.	.	.	.	1	
" "	<i>Phalaris arundinacea</i>	.	.	.	.	1	
<i>Phalaris arundinacea</i>	<i>Phalaris arundinacea</i>	1	.	24	.		
" "	<i>Calamagrostis arundinacea</i>	.	1	.	27	1	
" "	<i>Holcus lanatus</i> <sup>1)</sup>	.	.	.	.	1	
" "	" mollis	.	.	.	.	1	
<i>Melica nutans</i>	<i>Melica nutans</i>	1	.	19	6		
" "	<i>Avena sativa</i>	.	2	.	24		
" "	<i>Calamagrostis arundinacea</i>	.	1	.	19		
<i>Calamagrostis Epigeios</i>	<i>Calamagrostis arundinacea</i>	.	1	.	39		

1) Außerdem spricht Klebahn (VI. p. 333) von einem Versuche mit *Uredo coronata* des *Lolium*s (Species nicht angegeben), der auf *Phalaris arundinacea* und *Calamagrostis lanceolata* negativ ausfiel.

Die jetzt beschriebenen Versuche bestätigen zur Genüge, daß jede der bis jetzt auf ihre äcidiennerzeugende Fähigkeit geprüften Kronenrostformen ausschließlich auf eine der beiden *Rhamnus*-arten hingewiesen ist, entweder auf *Rhamnus cathartica* oder auf *Rh. Frangula*. Gegen dieses Gesetz ist in der That kein einziges abweichendes Versuchsergebnis anzuführen, seitdem der verdächtige Fall, daß eine auf *Holcus lanatus* vorkommende Form die beiden *Rhamnus*-arten habe anstecken können, jetzt von Klebahn (V. p. 331) so erklärt worden ist, daß auf der genannten Grasart zwei verschiedene Kronenrostformen vorkommen.

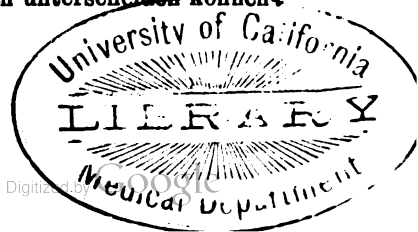
Unter solchen Umständen halte ich es jetzt für berechtigt, mit Klebahn diejenigen Formen, die fähig sind, auf *Rh. cathartica* überzugehen, als eine Art, *Puccinia coronifera* Kleb., und diejenigen, welche auf *Rh. Frangula* übersiedeln können, als eine zweite Art, *P. coronata* (Corda) Kleb., zusammenzufassen.

Es wird freilich dabei der Speciesbegriff gewissermaßen anders gefaßt, als gewöhnlich, da man dabei gewöhnt ist, diesen Begriff wesentlich auf morphologische Merkmale, nicht auf biologische Unterschiede, zu stützen. Ganz ohne morphologische Unterschiede sind die beiden Kronenrostarten jedoch nicht. Man hat beobachtet, daß die Teleutosporenlager von *P. coronifera* eine Neigung zeigen, ringförmige Gruppen um die zerstreuten Uredoflecken herum zu bilden und lange Zeit von der Epidermis der Wirtspflanze bedeckt zu bleiben, während dagegen bei den Formen, die *P. coronata* bilden, die Teleutosporenlager mehr unregelmäßig verteilt sind und oft schon im Herbst entblößt werden (Klebahn. III. p. 135—136). Vielleicht wird man auch in dem, wie es scheint, recht allgemeinen Auftreten von Paraphysen in dem Uredostadium der letztgenannten Art ein anderes morphologisches Merkmal finden.

Gilt es aber zu entscheiden, inwiefern die zu jeder Art gehörenden Formen sich von einander biologisch trennen oder nicht, so ergibt es sich, daß ein solcher Unterschied, wenigstens im Uredostadium, in der Kronenrostgruppe weiter, als in der Schwarzrostgruppe durchgeführt ist. Nur in einem bisher gefundenen Falle ist es gelungen, eine im Uredostadium begriffene Kronenrostform einer Grasgattung auf eine andere zu übertragen, und zwar von *Phalaris arundinacea* auf *Calamagrostis arundinacea* nach Klebahn (VI. p. 333).

Etwas anders stellt sich die Frage von einem Formenunterschiede in dem Aecidiumstadium. Es liegen hier einige Versuchsergebnisse vor, — vgl. Tab. IV, No. 6, 10 und 21, sowie Tab. V, — die darauf deuten, daß gewisse Kronenrostformen mit dem Aecidiumstadium als Brücke in seltenen Fällen auch auf anderen Grasarten, als auf der ursprünglichen Fuß fassen können. Für die Erreichung genügender Gewißheit hierin sind jedoch fortgesetzte Versuche von nöten.

Bei dem jetzigen Stande der Spezialisierungsfrage dürfte man in den beiden Arten zwischen folgenden Formen unterscheiden können:





**I. *Puccinia coronifera* Kleb.*****Aecidium* auf *Rhamnus cathartica*.**

- 1) f. sp. *Avenae* auf *Avena sativa*,
- 2) „ „ *Alopecuri* auf *Alopecurus pratensis* und *A. nigricans*,
- 3) „ „ *Festucae* auf *Festuca elatior*,
- 4) „ „ *Lolii* auf *Lolium perenne*,
- 5) „ „ *Glyceriae* auf *Glyceria aquatica*,
- 6) „ „ *Holci* auf *Holcus lanatus* und *H. mollis*.

Mutmaßlichen Uebergang mit dem *Aecidiumstadium* als Brücke hat man beobachtet: einmal bei f. sp. *Alopecuri* auf Hafer und einmal bei f. sp. *Festucae* auf Wiesenfuchsschwanz<sup>1)</sup>.

**II. *Puccinia coronata* (Corda) Kleb.*****Aecidium* auf *Rhamnus Frangula*.**

- 1) f. sp. *Calamagrostis* auf *Calamagrostis arundinacea* und *C. lanceolata*,
- 2) „ „ *Phalaridis* auf *Phalaris arundinacea* (auch var. *picta*),
- 3) „ „ *Agrostis* auf *Agrostis vulgaris* und *A. stolonifera*,
- 4) „ „ *Agropyri* auf *Triticum repens*,
- 5) „ „ *Holci* auf *Holcus lanatus*<sup>2)</sup> und *H. mollis*.

Unzweifelhaften Uebergang mit dem *Aecidiumstadium* als Brücke hat man beobachtet, einmal bei f. sp. *Calamagrostis* auf *Phalaris arundinacea*, und einmal bei f. sp. *Phalaridis* auf *Calamagrostis arundinacea*. Infolgedessen kann man diese beiden Formen als die am wenigsten getrennten unter allen hier aufgenommenen ansehen, und sie würden hier auch zu einer und derselben Form zusammengeführt worden sein, wenn nicht meine bisher ausgeführten Versuche, die Uredoform des einen auf die andere zu zu übertragen, sämtlich fehlgeschlagen wären. Die beiden Formen werden also hier bis auf weiteres als 2 getrennte Formen auseinander gehalten, wie es auch früher mit der wesentlich analogen f. sp. *Tritici* in der Schwarzrostgruppe (*Puccinia graminis*) geschehen ist. In Deutschland scheint der Formenunterschied weniger ausgeprägt hervorzutreten, da es Klebahn (VI, p. 331—332) im vorigen Jahre gelang, die Uredoform von *Phalaris* auf *Calamagrostis* zu übertragen.

Außer den jetzt genannten 11, auf je ihren Platz in das System

1) Vgl. auch Klebahn's (VI, p. 332) Versuch mit der Form der *Festuca elatior* auf *Lolium perenne*.

2) Seit mehreren Jahren habe ich am Experimentalfältet sehr häufig auf *Holcus lanatus* eine Uredoform gefunden, welche als eine *Uredo coronata* betrachtet wurde, bis es mir im Jahre 1896 nach vielem Suchen gelang, an einigen Scheiden ein Paar Flecken mit Telentosporen zu entdecken. Es zeigte sich damals, daß die Form nicht der *P. coronata* angehörte, sondern Telentosporen hatte, die einer Form der *P. dispersa* ähnlich waren. Sie ist wahrscheinlich eine besondere Species. Dieselbe Uredoform habe ich häufig in Skåne auf den *Holcus*arten getroffen.

eingereichten Formen giebt es jedoch eine große Zahl von Kronenrostformen, an etwa 40 verschiedenen Grasarten (Eriksson und Henning. I. p. 241—242), welche Formen bis jetzt weder in ihrer acidien erzeugenden Fähigkeit, noch in ihren sonstigen Spezialisierungsverhältnissen geprüft worden sind, und deren Einreihung auf den richtigen systematischen Platz also noch nicht möglich ist.

\*       \*       \*

Von diesen zahlreichen Formen will ich hier 2 etwas näher besprechen. Die eine ist die auf *Melica nutans* auftretende, welche unter die alte kollektive Art *P. coronata* Corda als f. sp. *Melicae* in der Ser. IV [Aecidium unbekannt. Fehlt?] aufgenommen wurde (Eriksson. I. p. 322). Sechs Jahre nacheinander ist diese Form in einem dem Experimentalfälschet gehörenden Walde beobachtet, und zwar in den 3 letzten Jahren sehr häufig, immer als *Uredo*. Eigentümlicherweise ist stets, auch in den 2 letzten Jahren, der Pilz sehr selten in seinem Pucciniastadium zu entdecken gewesen. Wiederholt sind Hunderte von rostigen Halmen durchmustert worden, gewöhnlich aber vergeblich. Die einzigen bisher gefundenen Teleutosporensammlungen stammen aus dem Jahre 1891, am 14. November eingesammelt, und aus dem Jahre 1894, am 20. Nov. eingesammelt, beide Male äußerst spärlich an einigen Blattscheiden. Die Flecken waren sehr klein, wenig an der Zahl und in der Mitte geborsten. Die Teleutosporen trugen sehr zahlreiche Kronenzacken, bisweilen auch an der unteren Zelle. Ihre Dimensionen waren folgende: die der unteren Zelle  $24,0-36,8 \times 9,6-11,2 \mu$  und die der oberen  $32,0-36,8 \times 9,6-11,2 \mu$ . Infolge des habituellen Auftretens des Pilzes konnte man hier eine Form von *P. coronata* Kleb. vermuten. Indessen fehlt es bei dem Melicapilz vollständig an Paraphysen im Uredostadium. Dieser Umstand, mit der bis auf ein Minimum reduzierten teleutosporenerzeugenden Fähigkeit zusammengestellt, sowie auch der Umstand, daß keine Rhamnusart in der Nähe — wenigstens auf 500 m — vorkommt, läßt uns vermuten, daß hier eine Rostart verliert, die keines Aecidiumstadiums bedarf, ja die vielleicht gar kein Aecidium entwickeln kann, und die also in der That weder mit *P. coronata* noch mit *P. coronifera* etwas anderes gemeinsam hat, als eine zufällige äußere Ähnlichkeit der Teleutosporen, die Kronenzacken auf ihren Gipfelzellen. Ich halte es also für nicht unwahrscheinlich, daß diese Form mit der Zeit als eine ganz selbständige Art für sich hervorgehen wird.

Dieselbe Form ist von A. Blytt (I. p. 44) in Norwegen an 3 Lokalitäten (Christiania, Horten, Larvik) gefunden. Durch die Güte meines geschätzten Freundes Blytt habe ich die Gelegenheit bekommen, Exemplare von 2 Orten zu sehen. Die am 10. Sept. 1896 bei Christiania eingesammelten Exemplare trugen nur *Uredo* und ähnelten vollständig den hier beobachteten. Die bei Horten am 11. Sept. 1883 eingesammelten Exemplare trugen sehr reichlich *Puccinia* an der Unterseite der Blätter. Leider waren sie zu alt, als daß man eine Aussicht hätte, mit denselben positiv ausfallende Versuche anordnen zu können.

Eine andere bemerkenswerte Kronenrostform wurde im Jahre 1896 auf *Calamagrostis epigeios* im Bergianischen Garten bei Stockholm angetroffen. Die Uredopusteln kamen am 8. September an den Blattspreiten, teilweise auch an den Blattscheiden der kräftig wachsenden Sprossen sehr häufig vor. Die Pusteln waren ungewöhnlich groß, stark feuergelb und ziemlich zerstreut, selten mehrere in engere Gruppe geordnet. Sie erinnerten habituell durch ihre Größe und Farbe an die des Haferkronenrostes (Eriksson u. Henning. I. Taf. XII. Fig. 129 b), wichen aber wesentlich von denjenigen anderer *Calamagrostis*arten des Platzes z. B. *Calamagrostis arundinacea*, *C. lanceolata*, *C. phragmitoides* ab, da bei diesen letzteren Arten die Pusteln sehr klein, schmal und zusammengedrängt sind.

Von den früher beobachteten Kronenrostformen auf *Calamagrostis*arten unterscheidet sich außerdem die neugefundene auf *C. epigeios* auch dadurch, daß unter den Uredosporen keine Spur von Paraphysen zu entdecken war. Die Uredosporen waren fast kugelförmig,  $22,4-25,6 \mu$ .

Die Teleutosporensammlungen traten an der unteren Blattfläche auf, in kleinen zerstreuten Gruppen oder auch vereinzelt, und waren sehr klein, oft fast punktförmig. Die Teleutosporen trugen relativ wenige Kronenzacken. Die untere Zelle war  $36,8-43,2 \times 9,6-11,2 \mu$  und die obere  $22,4-25,6 \times 12,8-14,4 \mu$ . Anfangs war die Anlage zur Teleutosporenbildung sehr kräftig, aber im Oktober fand sich, was ich auch früher bei anderen grasbewohnenden Uredineen beobachtet habe, ein anderer Parasitpilz (eine Art von *Leptosphaeria*) ein, der die Weiterentwicklung des Pucciniastadiums zuletzt fast vollständig unterdrückte.

Ein Versuch, diese Form auf eine andere *Calamagrostis*art zu übertragen (Tab. VI. No. 6), fiel negativ aus.

Es sind fortgesetzte Versuche nötig, um zu entscheiden, inwiefern diese Form zu einer der oben ausgeschiedenen Kronenrostarten zu rechnen ist, oder ob sie vielleicht eine selbständige Speciesstellung einnimmt. Bis auf weiteres mag sie unter die kollektive Art *P. coronata* Corda als f. sp. *Epigaei* aufgenommen werden<sup>1)</sup>.

\* \* \*

Stellt man alles, was hier oben gesagt worden ist, zusammen, so ergeben sich gegenwärtig nicht weniger denn 13 verschiedene Kronenrostformen als näher untersucht, obgleich nicht alle in allen ihren Einzelheiten recht aufgeklärt sind. Von diesen 13 Formen können 6 zu einer Art, *P. coronifera* Kleb. und 5 andere zu einer anderen Art, *P. coronata* Kleb. zusammengefaßt werden, und es bleiben also noch 2 übrig, die nicht an ihren richtigen Platz eingeordnet werden können, die große Zahl von Kronenrostformen nicht gerechnet, die noch nicht speziell untersucht sind. Diese Formen

1) An anderem Orte (Eriksson. IV. No. 449) habe ich auf *Calamagrostis epigeios* eine andere von dem hier beschriebenen Pils weit getrennte Species unter dem Namen *Puccinia pygmaea* beschrieben.

hält man am besten bis auf weiteres sämtlich unter dem alten Kollektivnamen *P. coronata* Corda zusammen, oder auch könnte man vielleicht, um die Anwendung des Namens *coronata* in doppeltem Sinne zu vermeiden, für diese Formen den von Preuss im Jahre 1862 (vgl. Eriksson und Henning. I. p. 243) in die Litteratur eingeführten Namen *P. septata* wieder aufnehmen.

Vergleicht man die so gewonnenen Resultate in betreff der Durchführung der Spezialisierung im Gebiete der Kronenrostpilze mit den für die Schwarzrostpilze früher gefundenen (Eriksson. III), so begegnet man einer wesentlichen Verschiedenheit. In der Schwarzrostgruppe (*P. graminis*) kennt man, wenn diejenigen Formen, welche den besonders ausgeschiedenen Timotheengrasrost (*P. Phleipratensis*) bilden, abgerechnet werden, bis jetzt an 18 Grasarten nur 6 spezialisierte Formen. Gewisse dieser 6 Formen treten also an mehreren verschiedenen Grasarten auf, diese bisweilen verschiedenen Gattungen gehörend. Der Roggenschwarzrost (*P. graminis* f. sp. *Secalis*) tritt also an folgenden 7 Grasarten auf: *Secale cereale*, *Hordeum vulgare*, *H. jubatum*, *Triticum repens*, *Tr. caninum*, *Tr. desertorum* und *Elymus arenarius*; und der Haferschwarzrost (*P. graminis*, f. sp. *Avenae*) an folgenden 8 Grasarten: *Avena sativa*, *A. elatior*, *A. sterilis*, *Dactylis glomerata*, *Alopecurus pratensis*, *Milium effusum*, *Lamarckia aurea* und *Trisetum distichophyllum*. Andererseits finden sich doch auch zugleich Schwarzrostformen, die wie diejenige der Glanzschmele (*P. graminis* f. sp. *Airae*) ausschließlich an eine Grasart gebunden zu sein scheint.

Wie anders ist es nicht in der Kronenrostgruppe (*P. coronata* Corda)? Dem auf die Berberitze übersiedelnden Schwarzrost entspricht hier natürlich jede der neu ausgeschiedenen Kronenrostarten, da in jeder dieser Arten eine und dieselbe äcidientragende Pflanze allen Formen gemeinsam ist. Wählt man *P. coronifera*, so trifft man an 8 Grasarten nicht weniger als 6 spezialisierte Formen, und bei *P. coronata* findet man an 8 Grasarten 5 solcher Formen. Rechnen wir in jener Art teils 2 unter sich nahe verwandte *Alopecurus*-arten (*A. pratensis* und *A. nigricans*), teils 2 Arten der Gattung *Holcus* (*H. lanatus* und *H. mollis*) ab, welche je zwei dieselbe spezialisierte Rostform tragen, sowie in dieser Art teils 2 *Calamagrostis*-arten (*C. arundinacea* und *C. lanceolata*), teils 2 *Agrostis*-arten (*A. vulgaris* und *A. stolonifera*), teils endlich die 2 *Holcus*-arten, von denen auch je zwei untereinander als Rostträger übereinstimmen, so findet man, im großen und ganzen, daß jede Grasart ihre besondere spezialisierte Kronenrostform hat.

Man kann kaum umhin, sich zu fragen, worin die Ursache dieser auffallenden Verschiedenheit im Durchführen der Spezialisierung in der Formenserie des Schwarzrostes und in der des Kronenrostes zu suchen sein mag, da ja sonst so viele Analogien unter ihnen vorkommen. Diese Frage können wir gegenwärtig wohl nicht recht beantworten, da wir nur eine erst beginnende Kenntnis des Wesens und der Herkunft des Spezialisierungsphänomens besitzen. Wir können höchstens in gewissen, hier oben angegebenen und mit gewissen, im

Freien beobachteten Verhältnissen zusammengestellten Versuchsergebnissen einen Fingerzeig erblicken, wohin wir beim Suchen einer richtigen Erklärung unsere Blicke richten müssen.

Wenn es sich so verhält, wie man sich ja denken möchte, daß nämlich eine spezialisierte Rostform auf die Weise entstanden ist, daß die Form, von Generation zu Generation durch eine gewisse Nährpflanzenart genährt, allmählich, je nach der nährenden Unterlage, einen so bestimmten Charakter angenommen hat, daß sie zuletzt an keiner anderen Nährpflanzenart, als eben dieser, gedeihen kann, und wenn es sich ferner so verhält, wie gewisse Versuche der Tabelle IV und V anzeigen, daß eine mehreren Formen gemeinsame äcidientragende Wirtspflanze eine, wenn auch nicht eben große, Fähigkeit besitzt, die Formenunterschiede, die im Begriff sind, sich zu entwickeln, so zu sagen, zu verwischen, so dürfte vielleicht auch ein verschiedenes häufiges Auftreten der äcidientragenden Wirtspflanze, vor allem der Aecidien an derselben, einen gewissen Einfluß üben können. Jetzt kann man wohl sagen, daß, wenigstens in Schweden — wo die meisten dieser Untersuchungen bis jetzt ausgeführt worden sind — der Berberitzenstrauch weit häufiger vorkommt, als der gemeine Wegdorn (*Rhamnus cathartica*) und der Faulbaum (*Rh. Frangula*). Wenigstens kann man nicht leugnen, daß die Berberitze in der Regel häufiger Aecidien trägt, als die beiden letzten Sträucher. Die Gelegenheit einer Verwischung der unterscheidenden Eigentümlichkeiten der in der Spezialisierung begriffenen Formen konnte man sich als eine seltenere denken, wenn es den Kronenrost gilt, welcher noch dazu bedeutend spärlicher vorkommt, als wenn es den Schwarzrost gilt. Die Kronenrostformen müssen infolgedessen dort in weit höherem Grade, als die Schwarzrostformen, darauf hingewiesen sein, ohne Aecidiumstadium fortzukommen, und ihre trennenden biologischen Eigentümlichkeiten ausgeprägter und fixierter zu entwickeln.

Die Verschiedenheit in der Durchführung der Spezialisierung der beiden Formengruppen läßt sich jedoch keineswegs allein auf die eben angegebene Weise erklären, wie auch nicht eine von Generation zu Generation gesteigerte Anpassung an eine gewisse Unterlage allein für sich hinreicht, das Wesen der Spezialisierung zu erklären. Zum Verständnis z. B. der auffallenden Fähigkeit des Haferschwarzrostes, auf eine große Zahl wilder Gräser von oft weit getrennten Gattungen überzusiedeln, müssen wir annehmen, daß beim Durchführen der Spezialisierung in jedem einzelnen Falle auch eine gewisse, größere oder geringere, der Form innewohnende Lebenskraft sich geltend macht. Wir wollen diese Lebenskraft die Vitalität der Form nennen. Die Annahme einer großen Vitalität beim Haferschwarzrost stimmt auch gut damit überein, daß diese Form auch in anderen Hinsichten, wie in der Keimfähigkeit der einzelnen Sporenformen, in den zahlreichen Erfolgen der Infektionsversuche und in den zerstörenden Wirkungen auf unsere Getreideernte, gegenwärtig eine besonders hohe Stellung einnimmt (Eriksson. II. p. 11. Note 2).

Wir wollen jedoch diese mehr theoretischen Betrachtungen hier nicht weiter verfolgen, sondern lieber nachsehen, inwieweit die jetzt geschilderte Verschiedenheit der Spezialisierung im Gebiete des

Schwarz- und in dem des Kronenrostes eine Erklärung der gegenseitigen Verschiedenheiten im natürlichen Vorkommen der zu jeder Gruppe gehörenden Formen, wenigstens was Schweden betrifft, geben können.

In Schweden tritt der Schwarzrost nicht nur an den 4 Getreidearten auf, sondern noch dazu an einer großen, etwa 100 betragenden, Zahl von Wiesen-, Wald- und Ziergräsern auf, und richtet an vielen Orten eine Zerstörung von großer wirtschaftlicher Bedeutung an. Anders verhält es sich mit dem Kronenroste. Dieser sucht eine weit geringere Zahl von Gräsern heim, unter den Getreidearten nur den Hafer, und er zeigt an jeder einzelnen Wirtspflanzenart eine oft auf recht kleine Lokalitäten beschränkte Ausdehnung und verursacht, wenigstens im mittleren Schweden, keine nennenswert große Verwüstung.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß diese Eigentümlichkeiten im Auftreten der Kronenrostformen in letzter Reihe von der scharf durchgeführten Spezialisierung der Formen abhängen müssen. Die Verbreitung des Kronenrostes von der einen Grasart auf die andere ist hier ein noch mehr untergeordneter Krankheitsfaktor, als in der Schwarzrostgruppe. Ja, es sieht aus, als ob eine derartige Verbreitung der Krankheit sowohl auf die acidientragende Wirtspflanze als auch von benachbarten Graspflanzen derselben Species auf einander, trotz der im allgemeinen guten Keimfähigkeit der Sporen, auch in geringerem Maße als in der Schwarzrostgruppe vorkäme, vielleicht in Folge einer im allgemeinen niedrigeren Vitalität der Kronenrostformen.

Die im mittleren und nördlichen Schweden kräftigsten Kronenrostformen sind, soweit die Beobachtungen bis jetzt reichen, die zu der *P. coronata* Kleb. gehörenden Formen auf *Calamagrostis*- und *Agrostis*arten, welche Formen von Dalarne im Norden bis nach Småland im Süden verbreitet sind, sowie die zu der *P. coronifera* gehörende Form auf *Festuca elatior*, die besonders aus der Umgegend von Stockholm bekannt ist. Keine dieser Formen scheint jedoch an den bekannten Lokalitäten besonders häufig aufzutreten, sondern es ist die Regel, daß nur einzelne Grasrasen rostig sind, oft in höchstem Grade, während andere Rasen desselben Grases, obgleich nur einen oder ein paar Fuß davon entfernt, ganz rein dastehen.

Man kann jedoch annehmen, daß die Kronenrostformen der südlicheren Gegenden, wo der Kronenrost wohl seine eigentliche Heimat hat, anders auftreten. So berichtet (Rostrup I. p. 13; II. p. 8. III. p. 5), daß der Kronenrost des Raygrases, besonders schottischen und irländischen Ursprunges, in den Jahren 1884, 1885 und 1886 sehr verheerend in Dänemark auftrat. Fälle sind ja auch bekannt, wo der Haferkronenrost verheerend gewesen ist, wie in Tanum, Bohuslän (Schweden) im Jahre 1890 und in Holstein im Jahre 1891 (Eriksson und Henning. I. p. 258).

Einige Beobachtungen über ein gefahrdrohendes Auftreten des Haferkronenrostpilzes habe ich auch selbst auf einer Reise nach dem Süden im Sommer 1895 gemacht. Bei einem Besuche des Versuchs-

feldes bei Svalöf (Skåne) in der letzten Woche des Juli fand ich nämlich an vielen Hafersorten den Kronenrost ebenso reichlich vorhanden, wie den Schwarzrost, wenn auch beide sich noch in ihren allerersten Anfängen befanden. Die Pusteln des Kronenrostes traten ausschließlich an den Blattspreiten auf, die des Schwarzrostes meistens an den Scheiden der Blätter.

Noch viel kräftiger fand ich jedoch den Haferkronenrost auf dem Versuchsfelde des Landwirtschaftlichen Instituts in Göttingen, als ich dieses Feld in der zweiten Woche des August besah. Diese Rostform trat an allem Hafer des Versuchsfeldes, besonders aber an den kräftigsten Pflanzen, so häufig und so kräftig auf, daß seine zerstörenden Wirkungen ganz mit den oft in Schweden beobachteten des Schwarzrostes vergleichbar waren. Nicht nur die Spreiten der Blätter waren von Rostpusteln so gut wie vollständig bedeckt, sondern es traten solche auch tief unten an den Scheiden auf, während an derselben Lokalität der Schwarzrost sich eigentümlicherweise nur recht spärlich zeigte.

26. März 1897.

#### Litteratur.

- Blytte, Axel, I. Bidrag til Kundskaben om Norges Soparter. IV. (Christ. Vid. Selak. Forh. 1896. No. 6. Christiania 1896.)
- Eriksson, Jakob, I. Ueber die Spezialisierung des Parasitismus bei den Getreiderostpilzen. (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. XII. 1894.)
- , II. Neue Untersuchungen über die Spezialisierung, Verbreitung und Herkunft des Schwarzrostes (*Puccinia graminis* Pers.). (Pringsheim's Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXIX. 1896.)
- , III. Fortgesetzte Beobachtungen über die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes. (Sorauer's Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897.)
- , IV. Fungi parasitici scandinavici exsiccati. Fasc. IX. Stockholm 1895.
- u. Henning, Ernst, I. Die Getreideroste, ihre Geschichte und Natur, sowie Maßregeln gegen dieselben. Stockholm 1896.
- Fischer, E., I. Resultat einiger neuerer Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Rostpilze. (Bot. Centralbl. Bd. LIX. 1894.)
- Klebahn, H., I. Kulturversuche mit heteroeischen Uredineen. (Sorauer's Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. II. 1892.)
- , II. Vorläufige Mitteilung über den Wirtswechsel der Kronenroste des Getreides und des Stachelrostes. (Ib. Bd. III. 1893.)
- , III. Kulturversuche mit heteroeischen Uredineen. Ber. 2. (Ib. Bd. IV. 1894.)
- , IV. Kulturversuche mit heteroeischen Rostpilzen. Ber. 3. (Ib. Bd. IV. 1894.)
- , V. Kulturversuche mit heteroeischen Rostpilzen. Ber. 4. (Ib. Bd. V. 1895.)
- , VI. Kulturversuche mit heteroeischen Rostpilzen. Ber. 5. (Ib. Bd. VI. 1896.)
- Plowright, C. B., I. A monograph of the British Uredineae and Ustilagineae. London 1889.
- Rastrup, E., I. Oversigt over de i 1884 indløbne Forespørgsler angaaende Sygdomme hos Kulturplanter. (Saetr. af Tidskr. f. Landøek. Kjöbenhavn 1885.)
- , II. Oversigt over de i 1885 indløbne Forespørgsler angaaende Sygdomme hos Kulturplanter. (Ib. 1886.)
- , III. Oversigt over de i 1887 indløbne Forespørgsler angaaende Sygdomme hos Kulturplanter. (Ib. 1888.)
- Schröter, J., I. Zur Entwicklungsgeschichte der Uredineen. (71. Jahresber. d. Schl. Ges. f. nat. Kult. Jahrg. 1893. Breslau 1894.)

Nachdruck verboten.

## Ueber Denitrifikation.

[Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Rom.]

Von

G. Ampola und E. Garino.

### Torf.

Die erheblichen Verluste an Stickstoff in den Dungmitteln, Verluste, die von der Denitrifikation herrühren, welche sich durch Mikroorganismen vollzieht, deren bis jetzt bekannte und identifizierte Arten der *Bacillus denitrificans* I und *Bac. coli* in Symbiose, *Bac. denitrificans* II, alle von Burri und Stutzer<sup>1)</sup> isoliert, und der von uns isolierte<sup>2)</sup> *Bac. denitrificans agilis* sind, zogen die Aufmerksamkeit der Pfleger der Ackerbauwissenschaft auf sich, die daran dachten, Mittel und Rat dagegen zu schaffen.

Die von Burri und Stutzer konstatierte Empfindlichkeit des *Bac. denitrificans* I und des *Bac. denitrificans* gegen Säuren, welche wir ebenfalls für den *Bac. denitrificans agilis* konstatiert haben, läßt den Gedanken rationell erscheinen, daß, wenn für die biologische Thätigkeit dieser Keime ungünstige Verhältnisse durch Hinzufügung einer Säure zu den Dungmitteln geschaffen sind, die Denitrifikation aufhören könnte.

An der agrikulturchemischen Versuchsstation von Halle gemachte und von Prof. Grandeau<sup>3)</sup> besprochene Versuche haben gezeigt, daß in dem mit dem natürlich-saure Reaktion besitzenden Torf addierten Stallmist der Verlust an Stickstoff, der nach 5 Monaten 54,56 Proz. beträgt, auf 20,11 Proz. reduziert wird.

Was den Torf betrifft, so haben wir bezüglich der Denitrifikation einige Versuche vorgenommen, über deren Ergebnisse zu berichten uns zweckmäßig erscheint.

Der von uns verwendete Torf kam aus den Torfmooren von Codigoro und gab uns bei der Analyse folgende Resultate:

Wasser 20,65 Proz.

Asche 10,40 Proz.

Gesamte Acidität (durch  $\frac{1}{10}$  norm. NaOH volumetrisch bestimmt) 9,84 Proz. Dieser Aciditätsgrad übersteigt denjenigen, durch welchen die bekannten Denitrificanten unfähig werden, nicht nur Gährung hervorzurufen, sondern auch sich zu entwickeln.

Die Wagner'schen Proben, die wir mit Mischungen in den Proportionen von

Wasser Gr. 100

Torf „ 2

NaNO<sub>3</sub> „ 0,32

gemacht haben, lieferten uns beständig negative Resultate, und nach

1) Centralblatt 1895.

2) Rendiconti, Accad. Lincei 2<sup>o</sup> sem. 1896, p. 346 und 373.

3) Journal d'agriculture pratique 1896, No. 42 und ff.



einigen Monaten haben wir die Anwesenheit des ganzen hinzugefügten Nitrats feststellen können.

Aus diesen Proben war es nicht erlaubt zu schließen, daß die denitrifizierenden Keime nicht im Torfe leben können, und wir haben deshalb die Operationsweise derart modifiziert:

In Röhren mit nitrierter Löfflerbouillon brachten wir mit einer Platin-Oese eine kleine Portion des zu probierenden Torfes; da die Quantität sehr klein war, so hatten wir nicht zu fürchten, daß der Alkaligehalt etwas geändert würde. Die Röhren wurden in einen bei 30° erhitzten Thermostaten gesetzt. Nach 3—4 Tagen beobachtete man in den Röhren die Entwicklung von Gasblasen und die Bildung des charakteristischen Schaums an der Oberfläche der Flüssigkeit.

Die Beständigkeit, womit wir in den Bouillonröhren die Erscheinung sich haben wiederholen sehen, führte uns auf den Gedanken, daß die Anwesenheit von Denitrifikationskeimen im Torf als normal anzusehen wäre und daß man die nicht erfolgte Zersetzung des Nitrats bei den Wagner'schen Versuchen der Acidität des Mediums zuschreiben müßte.

In der That haben wir nach Ausführung der Mischungen in den obenerwähnten Verhältnissen und Hinzufügung einer Lösung von kohlensaurem Natron, bis wir eine deutlich alkalische Reaktion auf Lackmuspapier hatten, die Schaumbildung und die daraus erfolgte Zerstörung des Nitrats in den Wagner'schen Proben konstatiert.

Die Uebertragungen aus den schon in Gährung begriffenen Reagenzröhren und aus den für die Wagner'schen Versuche angewandten Recipienten in nitrirte Bouillon hatten die Schaumbildung und die Zerstörung des Nitrats zur Folge. Mit Reinkulturen konnten wir einen Keim isolieren, den wir als den *Bac. denitrificans agilis* identifiziert haben.

Für die Praxis erscheint es uns interessant, hervorzuheben, daß, während unser Bacillus sich gegen die schon in sehr kleinen Mengen seine Vermehrung hindernden Säuren empfindlich zeigt, er in dem einen erheblichen Grad von Acidität besitzenden Torf lebensfähig bleibt.

Die Zusetzung von Torf zum Dünger hebt ohne Zweifel den Prozeß der Denitrification auf, solange der Aciditätsgrad, den der Dünger durch ihn annimmt, vorhanden bleibt. Sollte aber diese Acidität sich vermindern und gar ganz aufhören, was aus vielfachen Gründen in gedüngtem Boden geschehen kann, so findet der Denitrificant zu günstige Gelegenheit, seine biologische Wirksamkeit zu äußern, als daß man sagen kann, der gefürchtete Verlust von Stickstoff sei beseitigt.

*Nachdruck verboten.*

## Der Salpeterpilz.

Von

A. Stutzer und R. Hartleb.

(Fortsetzung.)

Versuch 6 erhielt eine Zugabe von  $0,5 \text{ NaHCO}_3$  (selbstverständlich ist dieses Salz im nicht sterilisierten Zustande hinzugesetzt, um eine Zersetzung des Salzes zu hindern). Es erfolgt eine beständige Durchleitung von Luft, welche von  $\text{CO}_2$  befreit ist. Das Resultat war genau dasselbe wie bei Versuch 5.

Versuch 7. Als Kohlenstoffmaterial werden 4 Tropfen sterilisierten Glycerins hinzugegeben und eine von Kohlensäure befreite Luft durch die Versuchsgefäße hindurch geleitet. Die Flüssigkeit wird stark getrübt. Am 14. Tage nach der Impfung war weder Nitrit- noch Nitratreaktion zu erhalten. Es hatten neben Stäbchen und Kokken feinflockige Mycelfäden sich gebildet und ist bei der guten Ernährung mit C und N anscheinend der ganze N in organische Form übergeführt. Es erfolgte nun ein neuer Zusatz von 5 ccm der Nitritlösung. Nach 6 Tagen erhielten wir keine Nitrit-, aber eine starke Nitratreaktion. Das abermals zugesetzte Nitrit war jetzt nach 3 Tagen in Nitrat verwandelt. Die Nährflüssigkeit des Versuches 7 wurde, nachdem wiederholt das zugesetzte Nitrit in Nitrat umgewandelt war, zu einem weiteren Versuche benutzt. Wir nahmen 25 ccm von der Flüssigkeit, brachten diese in einen Erlenmeyer-Kolben und übergossen sie mit 200 ccm einer Lösung, welche außer den nötigen Mineralsalzen 0,1 Proz. Asparagin und 0,1 Proz. Glycerin enthielt. Nach Verlauf von 8 Tagen war eine geringe Menge Nitrat nachzuweisen, das ohne Zweifel aus den 25 ccm der Impfflüssigkeit herstammte. Nach weiteren 10 Tagen konnte bei zunehmender Bildung von Mycelfäden etwas Nitrit, aber kein Nitrat nachgewiesen werden, und als nach Verlauf von abermals 8 Tagen die Prüfung wiederholt wurde, erhielten wir weder eine Reaktion auf Nitrit, noch eine solche auf Nitrat. Die Mycelfäden hatten sich wesentlich vermehrt und war durch die Aenderung der Ernährungsweise der Uebergang von Bakterien zum Fadenpilz vollendet.

Versuch 8. Die Zusammensetzung der Nährflüssigkeit ist die gleiche wie beim Versuch 7, mit Zugabe von Glycerin. Jedoch wurde keine Luft durch die Flüssigkeit hindurch geleitet, sondern eine Vorlage gegeben, welche Pyrogallussäure und Kalilauge enthielt, um den atmosphärischen Sauerstoff zu absorbieren. Die Beseitigung, bezw. die wesentliche Verminderung des Zutritts von atmosphärischem Sauerstoff zu den Versuchsgefäßen hatte einen merkwürdigen Erfolg. Die Flüssigkeit trübte sich stark, es stiegen Gasblasen auf und bildete an der Oberfläche sich ein fein zerrissenes, äußerst zartes Schaummycel. Nach Verlauf von 14 Tagen wurde die Nährlösung geprüft. Es war weder Nitrit noch Nitrat nachzuweisen. Durch wiederholte Zugaben von Nitrit fand anscheinend eine Vermehrung der Gasent-

wicklung statt und kam es vor, daß der als Verschuß dienende Gummistopfen aus der Oeffnung der Erlensmeyer-Kolben herausgetrieben wurde. Nach zweimaligem Zusatz schien die Zersetzung aufzuhören, das Nitrit verschwand nun nicht mehr. Da wir vermuteten, daß die Organismen das Glycerin als Kohlenstoffquelle verbraucht hatten, fügten wir einige Tropfen Glycerin neu hinzu, und begann in der That die Zersetzung jetzt wieder von neuem. Es entwich Stickstoff in freiem Zustande und fand dieselbe Salpeterzerstörung statt, welche wir bei früheren Untersuchungen durch die Thätigkeit eines aus Stroh isolierten Mikroorganismus bemerkt hatten.

Aus diesen Versuchen ziehen wir folgende Schlüsse: Die nitrifizierenden Organismen verwerten als Kohlenstoffmaterial die freie Kohlensäure der atmosphärischen Luft, die halbgebundene Kohlensäure der Bikarbonate und die gebundene Kohlensäure der Monokarbonate, sofern letztere in Wasser löslich sind.

Die Kohlensäure des unlöslichen Calciumkarbonates wurde — und zwar übereinstimmend mit den Versuchen, welche E. Godlewski<sup>1)</sup> mit  $MgCO_3$  anstellte — von den nitrifizierenden Organismen nicht aufgenommen, sofern die Atmosphäre, welche sich über der Versuchsfüssigkeit befand und die letztere selbst, freie Kohlensäure nicht enthielt. Hiermit ist keineswegs gesagt, daß die in Wasser unlöslichen Karbonate in der Natur sich völlig indifferent verhalten.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß zunächst, zur Einleitung der Nitrifikation, eine gewisse Menge  $CO_2$  zwar vorhanden sein muß, um bei Abwesenheit organischer C-Verbindungen den Organismen den nötigen Kohlenstoff zu liefern. Hat nun die Nitrifikation und somit die Säurebildung durch Oxydation der N-Verbindungen begonnen, so wird die erzeugte Stickstoffsäure soviel  $CO_2$  aus den in Wasser unlöslichen Karbonaten frei machen können, als zur Deckung des C-Bedarfes der Organismen erforderlich ist. Winogradsky wies nach, daß bei dem Verbrauch von 1 Teil C = 33–35 Teile N oxydiert werden und der Bedarf an C demnach ein recht geringer ist. In der Natur, insbesondere im Erdboden, wird jedenfalls soviel  $CO_2$  stets vorhanden sein, als zur Einleitung der Nitrifikation erforderlich erscheint und kann somit thatsächlich die aus jedem beliebigen Material herstammende  $CO_2$  von den Organismen, welche die Nitrifikation herbeiführen, in der Natur verwendet werden. Der Annahme Winogradsky's, daß bei der Nitrifikation große Mengen von Karbonaten der Zersetzung anheimfallen, können wir somit in vollem Maße beipflichten. Einiges Interesse beanspruchen noch die Versuche, bei denen die  $CO_2$  durch eine organische Kohlenstoffverbindung (bei unseren Versuchen durch Glycerin) ersetzt wurde. Sehr wenig Glycerin genügt, um die Organismen mit Kohlenstoff zu versorgen und diese auch zur Umwandlung von Nitrit zu Nitrat zu befähigen. Giebt man größeren Mengen von Glycerin, als diesem letzteren Zweck entspricht, so benutzt der Organismus die günstige Kohlenstoffquelle, um im Verein mit dem erzeugten Nitrat zu höheren vegetativen

1) Anzeiger der Akademie der Wissensch. in Krakau, 1892 p. 410.

Bildungen zu kommen, nämlich Mycelfäden zu erzeugen und die Form von Fadenpilzen anzunehmen.

Führt man die Versuche, bei denen Glycerin u. dgl. als C-Quelle und Nitrit als N-Nahrung dient, in einem Gefäße aus, in welchem unter dem Einflusse einer alkalischen Lösung von Pyrogallussäure der atmosphärische Sauerstoff der Kulturflüssigkeit entzogen, bezw. bis auf eine geringe Menge vermindert wird, so ist die Energie der mit gutem Kohlenstoff und einem genügenden N-Material gefütterten Organismen so groß, daß sie den nötigen Sauerstoff gewaltsam dem Nitrit entnehmen. Das Nitritmolekül zerfällt unter Entweichen von freiem N, so daß schließlich keine Spur von Nitrit (oder von Nitrat) mehr nachgewiesen werden kann. Wir haben nicht aufzuklären versucht, in welcher Weise die Umsetzung erfolgt. Das bei unseren Versuchen mit dem Nitrit verbunden gewesene Natron scheint in Natriumkarbonat sich verwandelt zu haben<sup>1)</sup>. Es ist nicht unmöglich, daß bei der Spaltung des Nitritmoleküls eine vorübergehende Erzeugung von Ammoniumnitrit durch Reduktion stattfindet, welche Verbindung vielleicht in statu nascendi wieder zerfällt. Wir enthalten uns eines jeden Urteils über diese Umsetzungen und stellen nur fest, daß die Flüssigkeit nach beendigter Zersetzung weder N in Form von NH<sub>3</sub>, noch als Nitrit oder Nitrat enthält, ferner, daß der N gasförmig entweicht und bleibt es späteren Forschungen vorbehalten, eine Erklärung für diese Verwandlungen zu finden.

2) Die Wirkung des freien Sauerstoffes. Die Notwendigkeit einer Zufuhr von Sauerstoff zu den lebenden Organismen muß als selbstverständlich gelten, namentlich solange, als der Salpeterpilz in seiner morphologisch höchst entwickelten Form von organischen Kohlenstoffverbindungen sich ernährt, und durch die Oxydation der letzteren die nötige Energiequelle sich erschließt. Vorhin wurde bereits erwähnt, daß die von dem Fadenpilz sich ableitenden nitrifizierenden Organismen freie Kohlensäure verbrauchen und eine Oxydation der Stickstoffverbindungen veranlassen.

S. Winogradsky nimmt an, daß für je 1 Teil aufgenommenen Kohlenstoffs 33—35 Teile Stickstoff oxydiert werden<sup>2)</sup>. Demnach ist der Sauerstoffverbrauch bei der Nitrifikation ein recht hoher und verhältnismäßig höher, als während der früheren Lebensperiode, in welcher der Organismus als Fadenpilz vegetierte. Auch Godlewski beobachtete bei der Nitritbildung eine Absorption des Sauerstoffs<sup>3)</sup> —. Wir suchten weitere Beiträge für die Notwendigkeit des Sauerstoffs zu liefern, indem wir uns die Frage zur Beantwortung vorlegten: Was geschieht, wenn man den Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffs beschränkt, bezw. ganz verhindert? Die allgemeinen Versuchsbedingungen bezüglich der Nährlösung und der Impfung derselben waren die gleichen, wie solche im vorigen Abschnitt angegeben sind, jedoch wurden von der Impfflüssigkeit nur 5 ccm verwendet.

Versuch 1. Als Kohlenstoffquelle werden zu den 200 ccm

1) Siehe auch Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. I. p. 397.

2) Berichte d. Züricher naturf. Gesellschaft. 1891. p. 204.

3) Anzeiger der Akademie der Wissensch. in Krakau. 1892. p. 411.

der Nährlösung 0,5 g  $\text{NaHCO}_3$  (in nicht sterilisiertem Zustande) hinzugegeben.

Die Versuchsgefäße sind durch einen Wattestopfen geschlossen und befinden sich in einem auf  $20^\circ \text{C}$  erwärmten Thermostaten. Nach Verlauf von 2 Monaten wurde die Flüssigkeit untersucht und fanden wir kein Nitrit, erhielten jedoch eine starke Reaktion auf Nitrat. Ammoniak ist nicht nachweisbar. Nach 3 Monaten war der chemische Befund derselbe. Mikroskopisch ließen sich fast nur kleine Kokken, zum Teil mit sehr langen Geißeln versehen, nachweisen. Vereinzelt kamen größere Kokken vor. Mycelfäden oder Stäbchen sind nicht vorhanden. Demnach war die Nitratabbildung normal verlaufen, die Organismen hatten hinreichende Mengen von assimilierbarer Kohlensäure und atmosphärischem Sauerstoff vorgefunden, um das gegebene Nitrit in Nitrat verwandeln zu können.

Versuch 2 unterschied sich von Versuch 1 dadurch, daß die Kulturflüssigkeit nicht in Erlenmeyer-Kolben gebracht ist, sondern in ein Rohr von  $3\frac{1}{2}$  cm lichter Weite, welches unten durch einen eingeschliffenen Glashahn fest verschlossen wurde. Der Glashahn ist vorher mit Vaseline gut eingerieben und wurde nach dem Eingießen der Versuchsflüssigkeit eine 10 cm hohe Schicht von reinem, weißen Vaselineöl hinzugegeben und das Rohr nach der Beschickung in einem vor Staub und Licht geschützten Raume aufbewahrt, welcher durchschnittlich eine Temperatur von  $20^\circ \text{C}$  hatte. Die Versuchsgefäße 1 standen unmittelbar neben den Gefäßen des Versuches 2 und war somit die Erwärmung der Flüssigkeiten völlig gleich.

Die Flüssigkeit des Versuches 2 trübte sich und gab, als sie nach Verlauf von 2 Monaten untersucht wurde, eine sehr starke Nitritreaktion.

Die Organismen bestanden jetzt aus größeren Kokken, welche dem Nitritbildner Winogradsky's entsprachen. Stäbchen sind nicht vorhanden. Nach Verlauf von 3 Monaten gab die Lösung ebenfalls eine sehr starke Reaktion für Nitrit und enthielt kein Nitrat. Spuren von Ammoniak sind vorhanden. Eine Gasentwicklung war während der ganzen Versuchsdauer nicht zu bemerken. Mikroskopisch ließen nach 3 Monaten kleine Kokken, und zwar in großer Anzahl sich nachweisen, vereinzelt sind auch Stäbchen vorhanden, oft zu mehreren aneinander gereiht. Mycelfäden waren nicht aufzufinden. Die Formen der Organismen haben während des letzten (dritten) Monats offenbar eine Verkleinerung erfahren.

Aus diesen beiden Versuchen ergibt sich Folgendes: „Die Kohlensäure des Bikarbonates ist ein geeignetes Kohlenstoffmaterial, um den Nitratabbildner lebend zu halten und ihn zu befähigen aus dem Nitrit des Nitrats zu bilden. Jedoch ist diese Arbeitsleistung nur dann möglich, wenn den Organismen außerdem freier atmosphärischer Sauerstoff zur Verfügung steht, um die höhere Oxydationsstufe des Stickstoffes hervorzubringen. Ist letzteres nicht der Fall, so bleiben zwar die Organismen längere Zeit lebensfähig, sie sind indes dann physiologisch unwirksam.

3) Die Wirkung der Stickstoffverbindungen. Das Verhalten verschiedener Stickstoffverbindungen zum Salpeterpilz ist

ohne Zweifel von besonderer Wichtigkeit. Zieht man die Nützlichkeit des Salpeterpilzes für die Menschheit und für die gesamte organische Natur näher in Betracht, so könnte man sagen, daß der Lebenszweck dieses Organismus in der Oxydation von N-Verbindungen besteht.

Bekanntlich vermögen andere Bakterien durch Symbiose mit den Leguminosen in einer bisher nicht aufgeklärten Weise den freien atmosphärischen Stickstoff in organische Stickstoffverbindungen überzuführen. In anderer Weise wirken die nitrifizierenden Organismen. Diese führen nicht nur für die Leguminosen, sondern auch für die Cerealien, für die Rübengewächse, Kartoffeln, Reben, Waldbäume etc. die Stickstoffverbindungen des Bodens und des Düngers in den assimilierbaren Zustand über und zwar in solcher Menge, daß ohne deren Mitwirkung eine rentable Land- und Waldwirtschaft nicht möglich sein würde. — Sollten ferner, so fragen wir, die großen Lager von Natronsalpeter in Chili und die kleinen Salpeterlager in Bengalen und in Südafrika nicht der Thätigkeit der nitrifizierenden Organismen ihren Ursprung verdanken? Eine solche Annahme scheint gerechtfertigt, da keine Beweise für die Entstehung des Salpeters auf rein chemischen Wege, d. h. unter Ausschluß von Organismen, bisher beigebracht werden können. Hätten wir keinen Salpeter, so würde die Fabrikation von Schießpulver, Dynamit und rauchlosem Pulver unmöglich sein.

Wir wollen es unterlassen, diese Gedanken weiter fortzuführen. Die Hinweise dürften genügen, daß die Erforschung der Lebereigenschaften der nitrifizierenden Organismen eine ungemein praktische Bedeutung hat, die es gerechtfertigt erscheinen läßt, daß wir uns mit der Stickstofffrage etwas eingehender beschäftigen. Die verschiedenen Entwicklungsstufen des Salpeterpilzes bedingen ein ungleiches physiologisches Verhalten derselben zum Stickstoff. Der Salpeterpilz in seiner höchst entwickelten Form, als Fadenpilz, verbraucht organische Stickstoffverbindungen. Jedoch kann er auch seinen Stickstoffbedarf zur Unterhaltung des Lebens aus dem Salpeter decken, falls ihm gleichzeitig eine günstige Kohlenstoffquelle (z. B. Glycerin) geboten wird. Wesentlich ungünstiger wirkten nach unseren Versuchen Ammonsulfat oder Harnstoff.

Läßt man den Salpeterpilz hungern, giebt man ihm eine schwer assimilierbare Kohlenstoffnahrung, so hat er, wie im Abschnitt „Morphologie“ näher dargelegt wurde, das Bestreben, Dauerformen zu bilden. Diese, bezw. die einzelnen Bestandteile derselben, sind mit einem hohen Oxydationsvermögen begabt, sie bilden, am besten bei schwach alkalischer Reaktion des Nährbodens, Nitrite, und erst dann, wenn der gesamte assimilationsfähige Stickstoff, welchen die Organismen erreichen können, in Nitrite übergeführt ist, beginnt die höhere Oxydation zu Nitrat. Ueber diese allmähliche Oxydation und den Beginn der Salpeterbildung nach vollständigem Verbrauch der organischen N-Verbindungen sind alle Forscher einig und besteht der einzige Unterschied speziell zwischen Winogradsky und uns darin, daß der erstere Forscher annimmt, die Nitritbildung geschähe durch einen anderen Organismus als die Nitratbildung, während wir den Nachweis lieferten, daß beide nur als verschiedene Entwicklungs-

stufen einer und derselben Stammform betrachtet werden müssen. Wir kommen zunächst zu einer Besprechung der Nitrifikation verschiedener Stickstoffsubstanzen, und ist die allgemeine Frage zu stellen: Bildet sich das Nitrit, als Vorstufe des Nitrats aus Ammoniak-Verbindungen, oder aus Stoffen, welche den Stickstoff in organischer Bindung enthalten, oder vielleicht aus beiden?

Nach älteren Versuchen von H. Warington können sehr dünne Lösungen von Asparagin (0,02 Proz.), Milch (5 ccm zu 1 l Wasser), Urin (1:100 verdünnt) und Harnstoff (0,05 Proz.) nitrifiziert werden, wenn diese Lösungen mit den nitrifizierenden Mikroben geimpft wurden.

S. Winogradsky impfte Lösungen von 1-proz. Asparagin und von Urin (mit der vierfachen Menge Wassers verdünnt), ohne später eine Nitrifikation feststellen zu können<sup>1)</sup> und schließt hieraus, daß die organischen N-Verbindungen zur direkten Nitrifizierung unfähig seien. Infolge dieser Beobachtung verwendete Winogradsky als Stickstoffmaterial stets Ammonsulfat unter Zusatz von Magnesiumkarbonat. Demnach wird bei seinen Versuchen die N-Substanz im wesentlichen aus Ammoniumkarbonat bestanden haben.

Die Abweichungen zwischen den Beobachtungen von Warington und von Winogradsky dürften nach unserer Ansicht eine einfache Erklärung in folgender Weise finden: Der englische Forscher nahm so dünne Lösungen, daß nach kurzer Zeit die organischen Kohlenstoffverbindungen verbraucht waren und ein Mangel in der Ernährung der Organismen durch Kohlenstoffhunger eintrat. Die Organismen bildeten nun Dauerformen und erlangten die Fähigkeit der Nitrifikation. In den viel stärkeren Lösungen des russischen Forschers war dagegen hinreichendes Kohlenstoffmaterial vorhanden, um den Organismus zu einer höheren Entwicklung zu bringen. Am Schlusse des Versuches (nach 6 Wochen) war ein wesentlicher Nahrungsmangel und somit eine Nitrifikation noch nicht eingetreten. Hätte Winogradsky unter genau denselben Bedingungen wie Warington gearbeitet, so wäre er nach unserer Ueberzeugung zu einem anderen, und zu dem gleichen Ergebnis wie Warington gelangt.

Nach unseren Versuchen, bei denen wir genügende Mengen von N-Material, aber beschränkte Mengen von assimilierbaren C-Verbindungen gaben, war die Entscheidung, ob der Organismus in den höheren Entwicklungsstadien vorzugsweise vegetativ sich entwickelt und organische N-Substanz verbraucht, oder fruktifiziert, Dauerformen bildet und zur Nitrifizierung neigt, wesentlich von der Menge des disponiblen Kohlenstoffmaterials abhängig. Im allgemeinen sind, unter sonst gleichen Verhältnissen, die organischen N-Verbindungen leichter zu nitrifizieren als Ammoniaksalze.

Ueberträgt man die kleinsten Dauerformen des Salpeterpilzes, also die kleinen Kokken und Sporenschläuche, aus einer schnell Nitrat-bildenden, flüssigen Kultur auf Gelatinenährboden (10 Proz. Gelatine in Leitungswasser gelöst), so tritt sehr schnell die Oxydation des Gelatinestickstoffs ein, namentlich dann, wenn die Organismen

1) Contributions à la morphologie des organismes de la nitrification. p. 23.

vorher nicht zu lange Zeit lediglich  $\text{CO}_2$  als Kohlenstoffquelle erhalten hatten. Beispielsweise gelang uns die Nitrifizierung sehr schnell, als wir die Kultur 7, welche im Abschnitt über die Wirkung der Kohlenstoffverbindungen beschrieben ist, zur Impfung von nicht neutralisierten Gelatinenährböden benutzten. Vorübergehend bildeten sich große Kokken von  $1,5-2 \mu$  Durchmesser und später traten an deren Stelle sehr kleine Stäbchen. Erstere entsprechen in morphologischer Hinsicht dem Nitritbildner, letztere dem Nitratbildner Winogradsky's, indes vermochten die letzteren bis zur vollständigen Verflüssigung des Nährbodens Nitrat nicht zu erzeugen.

Ueber den Einfluß des Sterilisierens auf Erde machte Winogradsky folgende Beobachtungen: Wurde Erde im Dampf sterilisiert, dann mit Ammonsulfat versetzt und mit einer Reinkultur von nitrifizierenden Mikroben geimpft, so ist stets Nitrit erzeugt, während in der nicht sterilisierten Erde nach der Zugabe von Ammonsulfat Nitrat gebildet wurde. Dieser Unterschied dürfte, da die Form des Stickstoffzusatzes die gleiche war, lediglich in der ungleichen Kohlenstoffassimilation der Organismen liegen. Durch das Sterilisieren sind teils organische Kohlenstoffverbindungen leichter löslich gemacht, teils wurden andere Mikroorganismen dabei getötet, welche mit der gleichen oder vielleicht mit größerer Energie der Kohlenstoffnahrung sich bemächtigen können, sobald die Erde nicht sterilisiert war.

Durch den Fortfall dieser Konkurrenz anderer Lebewesen und durch das beim Sterilisieren erfolgte „Aufschließen“ der Kohlenstoffsubstanzen haben die nitrifizierenden Organismen keinen großen Hunger nach Kohlenstoff. Sie bewirken unter diesen Verhältnissen eine Oxydation der organischen N-Verbindungen nur bis zum Nitrit. Dagegen führen die Nitrifikationsmikroben in der nicht sterilisierten Erde mit einer Uebermacht anderer Mikroorganismen einen Kampf ums Dasein, es werden ihnen die organischen Kohlenstoffverbindungen als Nährstoffe entzogen oder mindestens streitig gemacht, sie sind auf die  $\text{CO}_2$  angewiesen und nun auch fähig, die Nitrifikation bis zur Nitraterzeugung durchzuführen. Diese erfolgt, wenn die betreffenden Organismen in einem minder kräftigen, gewissermaßen in einem pathologischen Zustande sich befinden, welcher durch Hunger nach Kohlenstoff sich kennzeichnet und der auch morphologisch durch die kleinere Form der Organismen zum Ausdruck kommt. — Wir können nicht unterlassen, auf die Beobachtungen von Winogradsky noch weiter einzugehen. Nach denselben hatten die meisten europäischen Erden, namentlich diejenigen von Gennevilliers und Zürich, einen viel wirksameren Nitritbildner, als die außereuropäischen, und zeichneten sich unter letzteren die afrikanischen Erden ganz besonders unvorteilhaft aus. W. führt diese Thatsache auf die angebliche Existenz verschiedener Organismen von ungleicher physiologischer Wirksamkeit zurück. Wir glauben folgende Erklärung dafür geben zu müssen: Die genannten europäischen Erden wurden im frischeren Zustande von W. untersucht, die Organismen waren lebensfähiger und vermochten die ihnen gegebene, schwer verdauliche Nahrung (Ammonsulfat und  $\text{MgCO}_3$ ) zu verwerten.



In den stärker ausgetrockneten, längere Zeit auf dem Transport befindlich gewesenen Erden von außereuropäischen Ländern waren die nitrifizierenden Organismen durch Hunger und durch Durst physiologisch und morphologisch reduziert und nicht imstande, die ihnen dargebotene schwer verdauliche Stickstoffnahrung ebensogut zu verarbeiten. Hätte W. die Organismen zuvor gekräftigt, ihnen geringe Mengen einer leicht verdaulichen C- und N-Nahrung dargeboten und sie erst später mit Ammonsulfat gefüttert, so würde dieser Forscher wahrscheinlich die Beobachtung gemacht haben, daß die Mikroben nun den europäischen Arten in ihrer Wirksamkeit nicht nachstehen. Insbesondere erscheint auch hier wieder die Dargebotung einer geeigneten C-Nahrung von Wichtigkeit, deren Zufuhr indes nicht soweit getrieben werden darf, daß der Organismus zu einer kräftigen Mycelbildung schreiten kann.

Winogradsky hatte Spuren der verschiedenen Erden in eine Nährflüssigkeit übertragen, welche die nötigen Mineralsalze,  $\text{MgCO}_3$  und Ammonsulfat enthielt. Nach der vollendeten Nitritbildung des Ammonsalzes wurden neue Mengen von Ammonsulfat gegeben <sup>1)</sup>. W. klagt darüber, daß die Tochterkulturen nicht so gut gearbeitet haben wie die Stammkulturen und nach einer Reihe von Generationen das Nitrifikationsvermögen ganz erlischt. Zum Teil kann diese Schwächung in den flüssigen Kulturen vielleicht durch Mangel an  $\text{CO}_2$  entstanden sein, da die Organismen von der lockerer gebundenen  $\text{CO}_2$  des Ammonkarbonats lebten, welche bei der Umsetzung des Ammonsulfats mit  $\text{MgCO}_3$  sich bildete. In den Comptes rendus giebt W. nicht an, ob die Flüssigkeiten neben Ammonsulfat auch eine erneute Zugabe von  $\text{MgCO}_3$  erhielten. War dies nicht der Fall, so wurde die disponible  $\text{CO}_2$ -Quelle erschöpft und die aus der Atmosphäre von der Flüssigkeit absorbierte  $\text{CO}_2$  genügte vielleicht nicht, um unter den gegebenen Versuchsbedingungen die Organismen mit der nötigen Menge von C zu versorgen. Ferner kommt hinzu, daß sowohl Ammonsulfat wie auch das aus diesem durch die Einwirkung von  $\text{MgCO}_3$  etwa gebildete Ammonkarbonat nach unseren Erfahrungen ein schlechtes Material ist, um eine Nitrifikation herbeizuführen. Die Lebensbedingungen der Organismen waren demnach bei den Tochterkulturen von Winogradsky ungünstige und mußten notwendig eine Schwächung der Nitrifikation herbeiführen.

Von E. Godlewsky ist die Frage aufgeworfen, ob bei der Nitritbildung eine Abspaltung von freiem atmosphärischen Stickstoff stattfindet; G. glaubt diese Frage auf Grund seiner Versuche bejahen zu müssen. Es wird von ihm hervorgehoben, daß der Stickstoffverlust zwar nur ein geringer sei, daß wechselnde Mengen davon entweichen und die Entwicklung des Stickstoffs vermutlich auf einer Bildung und nachherigen Zersetzung von Ammonnitrit ( $\text{N}^2\text{O}^3 + 2 \text{NH}^3 = 3 \text{H}^2\text{O} + \text{N}^4$ ) beruhe.

Aus unseren mitgeteilten Beobachtungen geht hervor, daß bei ungenügendem Zutritt von atmosphärischem Sauerstoff zu den Versuchskulturen eine Reduktion des Nitrats und des Nitrits unter

1) Comptes rendus, I. c.

Abspaltung von freiem N stattfindet. Bei den von G. gewählten Versuchsbedingungen war thatsächlich in den geschlossenen Versuchsgefäßen ein Mangel an Sauerstoff eingetreten und ist somit die beobachtete Vermehrung des Stickstoffvolumens erklärlich. Selbstverständlich würde es unzulässig sein, aus den Versuchen von Godlewski den Schluß zu ziehen, daß auch unter anderen Verhältnissen z. B. bei Vorgängen in der Ackererde, die Nitrifikation mit Verlusten an freiem N immer verknüpft sei. Dies wird nur dann geschehen, wenn der Zutritt von atmosphärischem Sauerstoff zu den Nitrifikationsmikroben ein äußerst geringer ist und ist daher die hinreichende Durchlüftung des Bodens von hohem praktischen Interesse.

4. Welchen Formen des Salpeterpilzes kommt die Eigenschaft der Nitritbildung und welchen diejenige der Nitratbildung zu?

Ueberträgt man Spuren von einer auf Agarplatten gewachsenen Kolonie, die ursprünglich aus Sporen oder aus einem Sporangium des Salpeterpilzes hervorgegangen ist, in einen geeigneten Nährboden, mit organischen Stickstoffverbindungen, so kann man nach wenigen Tagen eine starke Nitritreaktion beobachten. Einen geeigneten Nährboden bildet insbesondere eine Lösung von 10 Proz. Gelatine und 0,10 Proz. Kaliumphosphat in Leitungswasser, welche Lösung sterilisiert und schwach alkalisch gemacht war. Es ist gleichgiltig, ob wir Teile von bräunlichen, rosafarbenen, farblosen Kolonien oder Teile einer *Zoogloea ramigera* verwenden.

Stets wird in kurzer Zeit eine reichliche Menge von Nitrit erzeugt. Gewisse Sporen wachsen zu Mycelfäden aus, andere bilden größere Kokken ( $1,8-2\ \mu$ ) und Stäbchen (Sporenschläuche). Mit zunehmender Erschöpfung des Nährbodens werden die Formen kleiner. Die Nitratbildung beginnt erst später, wenn der Nährboden arm an assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen geworden und die gesamte Menge der löslichen organischen N-Verbindungen zu Nitrat oxydiert ist. Die Formen der Organismen haben dann eine unbedeutende Größe und findet die Nitratbildung ausschließlich durch die sehr kleinen Kokken und Stäbchen statt. Die Nitriterzeugung ist keineswegs an die Form der Organismen gebunden. Die großen Kokken von  $1,8-2\ \mu$  Durchmesser sind ohne Zweifel ebenso gut zur Nitritbildung befähigt, wie die kleinen Stäbchen und Kokken, und kommt es lediglich darauf an, welche Nahrung den Organismen geboten wird.

Züchtet man die kleinsten Stäbchen und Kokken von ungefähr  $0,2\ \mu$  Durchmesser längere Zeit auf einem Nährboden, durch welchen sie den Kohlenstoff nur in äußerst geringen Mengen in Form assimilierbarer organischer Kohlenstoffverbindungen und den N als Nitrit zur Verfügung haben (z. B. auf alkal. Nitritagar) und überträgt die Organismen dann in einen guten Nährboden (z. B. in schwach alkalische Gelatine) so bemerkt man folgendes: Die Organismen befinden sich zur Zeit der letzterwähnten Uebertragung gewissermaßen in einem geschwächten, pathologischen Zustande, in welchem sie, wenn auch nur vorübergehend, einen Teil der N-Verbindungen der Gelatine in Nitrat umwandeln, ohne daß man in der Lage ist, nach-

weisbare Menge von Nitrit aufzufinden. Diese Beobachtung haben wir oft gemacht und gab dieselbe Anlaß zu der früheren Veröffentlichung „über einen auf Gelatine wachsenden Nitratbildner“. Indes dauert diese Nitratabbildung nicht lange Zeit. Der Organismus kräftigt sich durch die reichliche Nahrung und wird er nun zu einem Nitritbildner, solange als ihm organische N-Verbindungen zur Verfügung stehen.

Wir weisen an dieser Stelle nochmals darauf hin, daß die früher von Winogradsky vorgenommene Einteilung dieser Mikroben in Nitrit- und in Nitratbildner nicht haltbar ist. Allerdings haben wir in diesen Mitteilungen die Ausdrücke: Nitrit- und Nitratbildner ebenfalls gebraucht, um anzudeuten, daß wir dieselben Formen auffanden, wie solche von Winogradsky beschrieben sind, wir vermögen aber diesen Organismen einen physiologisch verschiedenen Wert im Sinne Winogradsky's nicht beizulegen.

#### 5. Untersuchungen über den in tropischen Böden vorkommenden Salpeterpilz.

Als Ausgangsmaterial zur Züchtung des Salpeterpilzes hatten wir bisher Erden aus verschiedenen Gegenden Deutschlands benutzt. Zu weiteren Versuchen verwendeten wir Boden aus Kamerun (von Viktoria und Bibundi, und zwar sowohl von unkultivierten Böden wie auch aus Kakaopflanzungen) sowie eine Anzahl von Böden aus verschiedenen Gegenden von Deutsch-Ostafrika. Ferner stand uns eine Erdprobe zur Verfügung, welche aus den Salpetergruben im Innern von Südwest-Afrika nach Europa geschickt war. Ohne Mühe gelang es uns, aus allen diesen Erden durch die Zugabe einer geeigneten C- und N-Nahrung einen Fadenpilz zu züchten, welcher, soweit unsere bisherigen Beobachtungen reichen, in keiner Weise von dem deutschen Salpeterpilz und dessen Dauerformen sich unterscheidet. Wir glaubten, daß die tropischen Salpeterpilze vielleicht physiologisch von unserem deutschen Pilz und dessen Abkömmlingen sich unterscheiden können. Um dies zu prüfen, verglichen wir die Salpetermikroben aus 3 Kamerunböden (aus Pflanzungen von Bibundi und Viktoria, sowie von wilden unkultivierten Böden) mit den betreffenden Mikroben, welche aus Bonner Gartenerde gezüchtet waren. Nach dem Verfahren von Winogradsky sind von uns auf Nitritagarplatten Kolonien des Nitratbildners gezüchtet, und wurden Teile von je einer Kolonie in 250 ccm einer Nährflüssigkeit übertragen, welche aus einer sterilisierten Lösung von 0,1 Proz. Kaliumphosphat, 0,8 g Natriumnitrit und 0,1 Proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bestand. Durch die Mischung wurde wochenlang ein langsamer Luftstrom hindurchgeleitet. Die Luft ist vor deren Eintritt in die Versuchsgefäße durch eine hohe Schicht von sterilisierter Watte filtriert.

Die Temperatur war konstant 30° C. Die Umwandlung des Nitrits in Nitrat erfolgte sehr schnell und zwar bei allen Versuchen vollständig gleichmäßig. Auch die weiteren wiederholt verabreichten Zugaben von Nitrit wurden in ganz regelmäßigen und übereinstimmenden Zeiträumen in Nitrat verwandelt.

Der Nitratbildner der Kamerunerde scheint demnach auch phy-

siologisch von dem betreffenden Organismus der benutzten deutschen Erde sich nicht zu unterscheiden. Weitere Versuche über das physiologische Verhalten derselben dürften nichts Neues ergeben und haben wir dieselben nicht weiter fortgesetzt. (Fortsetzung folgt.)

## Referate.

**Russell, H. L.**, *Outlines of dairy bacteriology, a concise manual for the use of students in dairying.* Second edition thoroughly revised and illustrated. 192 p. Madison, Wis. (by the Author) 1896.

Diese zweite Auflage ist vergrößert und enthält wie die erste Praktisches und Theoretisches über die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. Verbessert ist diese Auflage darin, daß der Autor Figuren dem Text beige stellt hat, was gewiß für die Schüler von großem Nutzen sein wird, denn das Buch ist für die „Dairy“-Studenten geschrieben. Aus dem Inhalt des Buches ergibt sich, daß die Arbeit eine sehr vollständige und erschöpfende ist. Der 1. Teil behandelt die Bakterien, und zwar Kapitel I die Morphologie und Struktur; Kapitel II die Physiologie, Kapitel III die Methoden, Bakterien zu studieren, während im 2. Teile, Kapitel IV die Beziehung der Bakterien zur Milch, Kapitel V die Milchgärung und Behandlung, Milchsäure, gasförmige, geronnene, butterartige, bittere, schleimige, alkoholische, seifenartige, rote, blaue, violette Milch, und Kapitel VI die pathogenen Bakterien der Milch, Kapitel VII die Aufbewahrung der Milch, insbesondere Pasteurisation, behandeln. Dieses Kapitel ist besonders fleißig zusammengestellt. Im dritten Teile werden die Beziehungen der Bakterien und Milchprodukte, Kapitel VIII, Bakterien in Rahm, Buttermilch, Molkenwasser, Kapitel IX, Bakterien in Butter, Methoden der reinen Kultur und Verwendung zur Butterherstellung beschrieben. Verschiedene abnormale Butter, trübe, faulige, bittere Butter. Kapitel X Bakterien in der Käsebereitung. Russell hat die deutsche, englische und dänische Litteratur recht fleißig zusammengestellt und ein wertvolles Buch herausgegeben.

L. H. Pammel (Jowa Agricultural College, Ames).

**Bendixen, N.**, *Die Mikroorganismen im Molkereibetriebe.* 8°. 44 p. mit 19 Textabbildgn. Berlin (P. Parey) 1897.

Das Werkchen ist nach der in der Einleitung ausgesprochenen Absicht des Verf.'s für Praktiker und speziell die sich mit Milchwirtschaft befassenden Landwirte berechnet. Es will die Sache in möglichster Kürze behandeln.

Das erste Kapitel bringt allgemeine Erörterungen über Lebensbedingungen, Vorkommen und Lebensäußerungen von Mikroorganismen, während diese sodann im folgenden Kapitel als Schimmelpilze, Hefen und Bakterien etwas näher behandelt werden. Als in Be-

tracht kommende Arten besonders namhaft gemacht werden hier nur *Oidium lactis* und *Penicillium glaucum*. Da naturgemäß u. a. auch Rahmsäuerung und Käsereifung in den Rahmen der Betrachtung gezogen werden, so dürfte das kaum jedem genügen, zumal wir denn doch wenigstens von einigen dieser Bakterienarten etwas mehr wissen. Im dritten Kapitel werden die Operationen im Molkereibetriebe in ihrer Beziehung zur Bakteriologie kurz besprochen (Melken, Lüften, Säuern, Buttern etc.).

Auf Einzelheiten kann hier nicht eingegangen werden. Bei mancherlei naheliegenden Ausstellungen bleibt zu beachten, daß der Verf. nur eine allgemeine Orientierung des von ihm ins Auge gefaßten Publikums bezweckt und diese auch wohl erreicht hat. Freilich hätte man erwartet, daß — wenn nun einmal Autoren zitiert werden — hier mit gleichem Maß gemessen wird, zumal wo hierzu die Kapitel vom „Säurewecker“ und den Käsereifungsbakterien die beste Gelegenheit boten. Wir finden da zwar Hansen und die Reihenhefen erwähnt, von Weigmann, Freudenreich, Adametz, Duclaux, Conn u. A. ist nirgends die Rede, wie denn auch u. a. die gerade für den Praktiker interessanten Versuche über Rahmsäuerung durch zugesetzte Milchsäure und Butteraroma nicht genannt werden. Eine Aufzählung der bereits vorhandenen ausführlicheren Werke gleicher oder verwandter Richtung (E. Kramer, Freudenreich, Lafar) hätte sich jedenfalls im Interesse des nach etwas Vollkommenerem verlangenden Lesers empfohlen. Die im übrigen ansprechenden Abbildungen rühren aber — was nicht vermerkt ist — nur z. T. vom Verf. her.

Wehmer (Hannover).

**Emmerling, O., Butylalkoholische Gärung.** (Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 1897. No. 4.)

Durch die Fitz'schen Arbeiten angeregt, hat Autor in Kuhexkrementen und Heu Gärungserreger gesucht, die Glycerin in butylalkoholische Gärung versetzen. Nach vielfachem Mißerfolg gelang es ihm schließlich, mit aus dem Elsaß bezogenen Heu diese Gärung zu erhalten. Der gefundene *Butylbacillus* ist mit dem von Fitz beschriebenen identisch, nicht aber mit dem *Granulobacter saccharobutyricus* von Beyerinck.

*B. butylicus* wurde vom Autor auch in morschem Holze gefunden.

A. Wróblewski (Krakau).

**Emmerling, O., Schimmelpilzgärung.** (Berichte d. Deutsch. Chem. Ges. 1897. No. 4.)

Auf die bekannte Thatsache gestützt, daß gewisse Schimmelpilze ohne Sauerstoffzutritt Alkoholgärung hervorrufen können, hat Autor versucht, die Verhältnisse festzustellen, welche dabei zwischen den Quantitäten von gebildetem Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure existieren.

Das Verhältnis des Alkohols zu Glycerin und Bernsteinsäure ist wie folgt gefunden worden: „Alkohol 22, Glycerin 1,83, Bernsteinsäure 0,31, d. h. es beträgt das Glycerin 8,3 Proz., die Bernsteinsäure 1,4 Proz. vom Alkohol. Dieselben Verhältnisse finden sich

durchschnittlich auch bei der Hefegärung. Die Schimmelpilzgärung ist also eine der letzteren durchaus analoge.“

A. Wróblewski (Krakau).

**Elnecke, A.**, Beiträge zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung von Säften verschiedener Stachel-, Johannis- und Erdbeersorten. (Landwirtsch. Versuchstationen. Bd. XLVIII. 1896. p. 131—160.)

Vor einigen Jahren hat auf dem Gebiete des Obstbaues die Neuerung Eingang gefunden, die bisher nur nach äußeren Merkmalen geschätzte Qualität der Obstsorten durch die chemische Analyse zu bestimmen und dadurch den Sortenwert resp. Sortencharakter auch wissenschaftlich zu begründen und festzulegen.

Da speziell über die Zusammensetzung der Beerenobstsorten wenig bekannt ist (erwähnenswert sind nur die Untersuchungen von Buignet an Erdbeeren [s. König, Die Zusammensetzung der menschl. Nahrungs- und Genußmittel. Bd. I. p. 776] und die von L. Weigert an Johannisbeeren. Jahresb. v. Klosterneuburg. 1894), so hat der Verf. Untersuchungen in dieser Richtung an einer Reihe bestimmt charakterisierter Stachel- und Johannisbeer-, ferner an einigen Erdbeersorten ausgeführt. Es war dabei die Lösung der folgenden beiden Fragen zur Aufgabe gestellt worden (vgl. eine frühere Mitteilung des Verf. in den Landwirtschaftl. Versuchstationen. Bd. XLVIII. p. 21):

1) Bestehen Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der Beerensäfte, und

2) wenn dies der Fall, sind dann die Unterschiede als besondere Eigenschaften der Sorte zu bezeichnen, oder sind sie nur vorübergehende, durch bedingte Erscheinungen günstige Kultur- und Dönungsverhältnisse, Jahreswitterung etc.?

Die Bearbeitung dieser Aufgaben geschah in der Weise, daß in einem Jahre die chemischen Unterschiede bei einigen wertvollen, weitverbreiteten und genau bestimmten Sorten aufgesucht wurden. Im folgenden Jahre erweiterte sich die Untersuchung, indem dieselben Sorten aus verschiedenen Gegenden mit abweichenden Kulturbedingungen bezogen und einer nochmaligen chemischen Analyse unterworfen wurden. Auf diese Weise konnte festgestellt werden, inwieweit eine im ersten Jahre beobachtete Eigentümlichkeit in der chemischen Zusammensetzung eines Beerensaftes unter verschiedenartigen Kulturbedingungen etc. erhalten bleibt und ob es demgemäß zulässig ist, von einem bestimmten Sortencharakter in chemisch-physiologischer Hinsicht zu sprechen.

Das Untersuchungsmaterial (6 Sorten Stachel-, 4 Sorten Johannis- und 4 Sorten Erdbeeren) war aus einigen großen Obstplantagen in Jena, Berlin, am Harz und der Provinz Sachsen bezogen worden. — Die chemische Analyse der Säfte umfaßte die Bestimmung der Saftmenge im Verhältnis zu den Trestern, des spezifischen Gewichts, des Zuckers, der Säure, des Gerbstoffes, des Extraktes (Abdampfrückstand des Saftes), der stickstoffhaltigen Substanzen, der Rohasche, der Phosphorsäure und des Kalis.

Aus den numerischen Ergebnissen, welche zu Tabellen vereinigt sind, läßt sich Folgendes schließen:

Der Sortencharakter gelangt bei Stachel- und Johannisbeeren in den chemischen Bestandteilen der Säfte nicht immer so scharf zur Ausbildung, daß man auf Grund der Analyse genau bestimmen kann, von welcher Sorte ein untersuchter Stachel- oder Johannisbeersaft herrührt. Die Proben von 2 Jahrgängen unterscheiden sich z. T. im Saftgehalt und in der Menge der Saftbestandteile ganz erheblich. Der Einfluß des Klimas, sowie der des Bodens erstreckt sich, nach den bisher erzielten Ergebnissen, fast nur auf den Saftgehalt, während er in der Menge der Saftbestandteile keine bedeutenden Verschiedenheiten bedingt. Bezüglich des Einflusses der Düngung ließ sich ein abschließendes Urteil noch nicht aussprechen, da die betreffenden Sträucher erst 1 Jahr der Wirkung der Düngung ausgesetzt gewesen waren. Bei Stachel- und Johannisbeeren konnte vorläufig ein Einfluß der Düngung auf den Gehalt an wertbestimmenden Substanzen in den Säften noch nicht beobachtet werden; bei Erdbeeren dagegen bewirkt die Düngung bereits im 1. Jahre eine Steigerung der wertvollen Saftbestandteile.

Der Verf. hat auch die durch Düngung bewirkten Veränderungen in der Zusammensetzung der Asche von Stachelbeer- etc. Säften und Trestern in den Kreis der Untersuchungen aufgenommen; die Ergebnisse lassen sich indessen in Kürze nicht wiedergeben.

In einer Schlußbemerkung weist der Verf. noch ausdrücklich darauf hin, daß zur Gewinnung eines einigermaßen sicheren Endergebnisses bei Untersuchungen obiger Art Analysen von vielen Jahrgängen erforderlich sind und will für die von ihm aufgestellten Sätze nur nach der hierdurch gegebenen Einschränkung Giltigkeit beanspruchen.

Scherpe (Berlin).

Conrad, E., Bakteriologische und chemische Studien über Sauerkrautgärung. (Arch. f. Hyg. Bd. XXIX. 1897. p. 56.)

Da in der Litteratur über den Erreger der Sauerkrautgärung nichts verzeichnet ist, so hat Verf. diese Frage eingehend behandelt. Nachdem der Organismus der Sauerkrautgärung höchstwahrscheinlich auf dem frischen Kraut vorhanden sein mußte, so untersuchte Verf. zunächst frisches Kraut auf seinen Bakteriengehalt. Es gelang nun, hier ein Bakterium zu isolieren, welches bei  $\frac{2000}{1}$  folgenden mikroskopischen Befund zeigte: Dasselbe stellt ein kleines, abgerundetes Kurzstäbchen dar, 0,8—2,4  $\mu$  lang und 0,4—0,6  $\mu$  breit, zuweilen zu starken Fäden auswachsend. Im hängenden Tropfen zeigt es eine rege Eigenbewegung, welche durch 4—8 Geißeln hervorgebracht wird; dieselben erreichen die drei- bis fünffache Länge des Bakteriums. Dasselbe läßt sich mit allen Anilinfarben färben, aber nicht nach Gram, oder höchstens schwach. Der Organismus ist fakultativ anaërob und wächst sehr schnell. Das Bakterium vermag Maltose, Laktose und Dextrose zu vergären.

Aus den gesamten Untersuchungen lassen sich folgende Schluß-

folgerungen ziehen: 1) Die Vergärung des Weißkrautes zum Sauerkraut bewirkt das *Bacterium brassicae acidae* (Lehmann und Conrad), ein naher Verwandter des *Bacterium coli*. 2) Beständig finden sich beim Gärungsprozeß noch 2 Hefearten: eine dem *Saccharomyces cerevisiae* und eine dem *S. minor* nahestehend. 3) Das Bakterium bildet im Weißkraut und auch experimentell in Zuckerlösungen eine Menge Säure, welche bis zu einem gewissen Grad im Laufe der Zeit zunimmt und dann konstant bleibt. Die Bakterien gehen dabei allmählich zu Grunde. Aërob oder anaërob ist die Säurebildung gleich, die Temperatur beeinflußt die schnelle Steigerung derselben stark. 5) Die am meisten vorherrschende Säure ist die optisch inaktive Aethylidenmilchsäure. 6) Die Bakterien bilden im Sauerkraut außer der Säure Gase und zwar außer Kohlensäure und Wasserstoff noch Methan, eine Eigenschaft, welche von den nahestehenden Arten bisher nicht bekannt ist. 7) Außer durch die Fähigkeit, Methan zu bilden, unterscheidet sich das Bakterium nicht weiter von dem in Frage kommenden *B. coli*, dagegen von dem nahestehenden *B. acidilactici* durch die Beweglichkeit und dadurch, daß es sich nach der Gram'schen Methode entfärbt. 8) Die Hefen sind an der Gärung beteiligt; der von ihnen gebildete Alkohol liefert höchstwahrscheinlich das Material zur Esterbildung. Bei der Vergärung von Zuckernährböden mit Hefen und Bakterien zusammen bleibt der üble buttersäureartige Geruch der älteren Reinkulturen des Bakteriums aus, die Gase sind reicher an Kohlensäure, ärmer an Wasserstoff und Methan. 9) Der Gesamtstickstoffgehalt des Weißkrautes ist zu 40 Proz. als Eiweiß, zu 60 Proz. in nicht eiweißartigen Stickstoffverbindungen enthalten. 10) Zucker fehlt im vollständig vergorenen Sauerkraut gänzlich, an seine Stelle tritt der dem Zucker entsprechende Säuregehalt.

Stift (Wien).

**Forschungen über die zweckmäßige Behandlung des Stallmistes**, ausgeführt auf Veranlassung der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft, Dünger-(Kainit-)Abteilung, von Dietzell-Augsburg, Pfeiffer-Jena, Wagner-Darmstadt.

**Dietzel, B. E.**, Versuche über die Konservierung des Stallmistes.

**Pfeiffer, Th. (Ref.), E. Franke, C. Goetze und H. Thurmann**, Beiträge zur Frage über die bei der Fäulnis stickstoffhaltiger organischer Substanzen eintretenden Umsetzungen. Mit 1 Abbildung.

**Aeby, J., R. Dörsch, Fr. Matz und Paul Wagner (Ref.)**, Forschungen über den relativen Düngewert und die Konservierung des Stallmiststickstoffs. I. Mit 2 Tafeln. (Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. Bd. XLVIII. 1897. p. 163—360.)

Wie schon der Titel angiebt, sind die in den vorliegenden Berichten mitgeteilten Resultate gewonnen im Verfolg von Untersuchungen, welche auf Veranlassung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft über die so wichtige Frage der Konservierung des Stalldüngers angestellt sind. Sie behandeln die Frage indes nur vom



rein chemischen Standpunkte aus. Ueber die bei den einzelnen Versuchen thätigen Mikroorganismen sind leider keine Untersuchungen angestellt. Die biologische Seite der Frage ist im Auftrage derselben Gesellschaft von anderen Forschern in Angriff genommen, und werden dadurch die vorliegenden Arbeiten hoffentlich die unbedingt nötige Ergänzung erfahren. Zur Erzielung allgemein gültiger Resultate und zur Eruiierung der Gesetzmäßigkeiten in der natürlichen Zersetzung des Stallmistes, die je nach der in ihm vorhandenen Pilz- und Bakterienflora wahrscheinlich einen sehr verschiedenen Gang nehmen kann, auch bei gleichen äußeren Bedingungen, ist die biologische Forschung ja unentbehrlich.

Dietzel prüft die Zersetzung von Rinderkot, dem 10 Proz. Häcksel zugesetzt war, ferner von Kot +  $\frac{5}{8}$  seines Gewichts an Erde, sowie von Kuhharn, dem ca.  $\frac{1}{3}$  seines Gewichts Häcksel beigemischt wurde, mit und ohne Durchlüftung und mit und ohne Zusatz von Konservierungsmitteln wie Kainit, Gips, Superphosphat etc. Der Verlust an Stickstoff wurde vermieden, wenn keine Durchlüftung stattfand. Bei Durchlüftung haben sich von den Konservierungsmitteln Gips und Kainit überall, Doppelsuperphosphat und Präcipitat dagegen nur bei der Kot-Erde- und bei der Harn-Häcksel-Mischung bewährt. Bei den Kotversuchen wurde nur wenig Ammoniak gebildet, während der Harnstickstoff bei den Versuchen mit Konservierungsmitteln ganz in Ammoniak-Stickstoff übergeführt wurde. Für die Konservierung des Stallmistes rät Verf. deßhalb wesentlich möglichststen Luftabschluß, also Festtreten oder Pressen desselben an, während die Jauche in besonderen Behältern gesammelt werden sollte.

Die Untersuchungen der Versuchsstation Jena (Pfeiffer) führten zu einer Anzahl auch für den Bakteriologen besonders interessanter Ergebnisse. Hier zeigen sich die Mängel der Methode aber auch besonders deutlich durch die hervortretenden widersprechenden Resultate. So sind die Verluste an Stickstoff und organischer Substanz allerdings im allgemeinen nur gering, wenn der Luftzutritt beschränkt wurde. Aber schon dabei wurde eine unerklärliche Ausnahme konstatiert. Insbesondere sind jedoch die Resultate, welche bei Benutzung von Konservierungsmitteln erhalten wurden, voll von Widersprüchen. Unter allen Umständen wirkte der Zusatz viel weniger als die mechanische Pflege des Mistes, Verminderung des Luftzutrittes, was mit dem von Dietzel erhaltenen Ergebnis übereinstimmt. Die Verluste an Ammoniak waren überall, wo sie überhaupt beobachtet werden, relativ gering. Dagegen kann unter Umständen der Stickstoff so gut wie ausschließlich als freier Stickstoff entweichen; in den Versuchen betrug der Verlust infolge davon bis 42,6 Proz. des ursprünglich vorhandenen Gesamtstickstoffs.

Während bisher fast allgemein die Entstehung von freiem Stickstoff auf die Denitrifikation von Salpeter zurückgeführt wurde, glauben die Verf. die Stickstoffentbindung bei ihren Versuchen wesentlich auf die Oxydation des gebildeten Ammoniaks zurückführen zu müssen. Auch diese Oxydation unter Entbindung elementaren Stickstoffs schreibt eine Hypothese der Verf. der Beteiligung von Mikroorganismen zu. Dadurch, daß eine zur vollständigen Bindung des Am-

moniake genügende Menge Superphosphat zugesetzt wurde, ließ sich die Oxydation des Ammoniake, also der Stickstoffverlust vollständig, hindern. Auch Zugabe von Aetzkalk und kohlensaurem Kalk hob die Entbindung des freien Stickstoffs aus gärendem Dung bei Zimmertemperatur fast völlig auf. Die ammoniakalische Gärung wurde dagegen durch Kalkzusatz meist gesteigert und auch durch Beigabe von 1 Proz. Schwefelsäure nur wenig herabgedrückt. Von Interesse ist noch die Beobachtung, daß die Denitrifikation von Salpeterlösung bei Zusatz von Pferdemist auch beim Durchleiten von Luft durch die Lösung erfolgt, und daß ein Zusatz von 2 Proz. Aetzkalk zu frischem Pferdemist die denitrifizierende Wirkung des letzteren aufhebt.

Die Untersuchungen Wagner's und seiner Mitarbeiter betreffen hauptsächlich die von ihm in ihrer großen Wichtigkeit für die Landwirtschaft zuerst erkannte Entbindung freien Stickstoffs aus Salpeter, welche nicht nur von gewissen im frischen Tierkot vorhandenen Bakterien herrührt, sondern auch durch Zugabe von Stroh, humushaltiger Erde, gelagertem Stallmist und besonders stark durch Zufügung von Erde und Stroh im Gemenge zu Salpeterlösungen herbeigeführt werden kann. Die Denitrifikation ist die hauptsächlichste Ursache der Stickstoffverluste im Stalldünger. Aufgabe der Konservierungstechnik ist es demnach, entweder die Ammoniakgärung im Mist oder die Ammoniakverdunstung aus Harn und Mist oder endlich die Thätigkeit der denitrifizierenden Bakterien zu verhindern. Die Ammoniakgärung ist nur im Harn eine lebhafte; in einem Gemenge von Kot und Streu dagegen ist sie so langsam, daß sie für die Frage der Konservierung nicht in Betracht kommt. Kot und Streu sind nur insofern von Einfluß, als ihre Gegenwart auf den Gang der Zersetzung des Harnes meist ohne Einfluß ist, die Ammoniakgärung beschleunigt. Im übrigen ist die Frage der Konservierung des Stickstoffs im Dünger identisch mit der des Stickstoffs im Harn. Beim Lagern eines Gemenges von Kot und Streu in hoher festgetretener Schicht, also bei möglichstem Luftabschluß, finden selbst bei längerer Lagerung nur geringe Veränderungen in ihm statt. Bei lockerer Lagerung und häufigem Umschaukeln treten dagegen unter dem Einfluß der Luft lebhafte Zersetzungen der organischen Substanz unter Selbsterwärmung auf, wobei bis 50 Proz. der organischen Substanz verschwinden kann. Konservierungsmittel waren dabei ohne Einfluß. Diese Zersetzung und Humifizierung schwächt zugleich das Denitrifikationsvermögen, wodurch es sich wohl auch erklärt, daß verrotteter Mist als Dünger so oft besser wirkt als frischer. Zugabe von Kalk begünstigt diese Verminderung der salpeterzersetzenden Kraft, die jedoch nie ganz zerstört wurde. Auch Behandlung mit Schwefelkohlenstoff konnte in keinem Falle das Denitrifikationsvermögen des Stallmistes aufheben; nur eine Schwächung desselben gelang durch große Schwefelkohlenstoffmengen, wobei aber nach einiger Zeit fast immer die alte Intensität wieder erreicht wurde. Verff. suchen das mit der Annahme zu erklären, daß nur die Sporen (?) der denitrifizierenden Bakterien in größerer oder geringerer Zahl je nach Dauer und Ausgiebigkeit der Schwefelkohlenstoff-Einwirkung die Behandlung überstanden haben. Besser als dieses Mittel eignen sich Schwefelsäure

und Kupfervitriol zur Verhütung der Denitrifikation. Von ersterem genügte selbst ein geringer Zusatz, so bemessen, daß die Mischung 0,1 Proz. freie Schwefelsäure enthielt, um den Salpeter 160 Tage lang vor der Zersetzung vollständig zu schützen.

Nebenbei bestätigen einige Düngungsversuche, bei denen teils der Mist, teils die Erde mit Schwefelkohlenstoff vorbehandelt wurde, in interessanter Weise den Befund A. Koch's, nach dem eine Schwefelkohlenstoffbehandlung des Bodens als wachstumsfördernder Reiz auf die Pflanzen wirkt. Wurde der Mist mit Schwefelkohlenstoff behandelt, so verminderte sich (infolge der eintretenden Denitrifikation) die Ausnutzung der gleichzeitig dem Boden einverleibten Stickstoffsalze; wurde dagegen die Erde mit Schwefelkohlenstoff behandelt, so erhöhte sich (infolge der Reizwirkung auf das Wachstum) die Ausnutzung des Dünger-Stickstoffs.

Wenn auch die Untersuchungen der 3 Stationen der Natur der Sache nach keine endgültigen Resultate zu zeitigen vermochten infolge der Außerachtlassung der biologischen Seite der Frage, so sind dieselben doch auch von den Vertretern des letzteren Standpunktes dankbar zu begrüßen als höchst anregend und jedenfalls weit nützlicher für die Sache als Hypothesen, welche, allen Grundthatsachen der Bakteriologie zum Trotz und in verspäteter Wiederholung von längst überwundenen Ideen, Nitrifikations- und Denitrifikations-Bakterien als gleichartig und von Schimmelpilzen abstammend ausgehen! Behrens (Karlsruhe).

**Barbut, Ueber eine Bakterienkrankheit der Reben.**  
(La vigne française. 1896. No. 13. p. 207 ff.)

Die Krankheit tritt zuerst am Grunde der Triebe auf. Die Rinde wird gelblich, dann rot, schließlich mehr oder weniger dunkelrotbraun. Es erscheinen tiefe, manchmal bis aufs Mark gehende Risse, welche von der Basis nach den Spitzen der Zweige zu fortschreiten. Charakteristisch für die Krankheit ist, daß sich die erwähnten Erscheinungen nur auf der einen Seite der Triebe zeigen, während die anderen Teile ihre normale grüne Farbe behalten. Die an der einen Seite des Blattstieles von dem Uebel ergriffenen Blätter röten sich und vertrocknen dann zum Teil. Nur bei vorgeschrittener Krankheit, wenn der Blattstiel in seinem ganzen Umfange befallen ist, sterben die Blätter ab. Die Trauben werden in derselben Weise angegriffen. Beerenstiele und Beeren werden rot oder braun, vertrocknen und fallen ab, während die auf der gesunden Seite der Traube befindlichen fortfahren, sich normal zu entwickeln. Die Krankheit zerstört zuerst in der Längsrichtung die Hälfte der Traube. Die ganze Traube vertrocknet, sobald der Traubenstiel in seinem ganzen Umfange verändert erscheint. Die Ursache der geschilderten Erscheinungen sind Bakterien, bewegliche und sehr kurze Stäbchen, welche in mikroskopischen Schnitten zu Myriaden gefunden werden. Durch Ueberimpfen derselben kann ein rasches Absterben gesunder Zweige bewirkt werden.

Als Mittel gegen das Uebel wird empfohlen: 1) Die kranken Weinstöcke zu beschneiden und Zweige und Rinde zu verbrennen.

2) Nach vollendetem Schnitt sollen die gebrauchten Messer u. s. w. durch die Flamme gezogen werden, bevor man mit denselben an gesunde Reben geht. 3) Die Schnittflächen sollen im Herbst mit einer 10-proz. Lösung von Kupfersulfat bestrichen werden. Verf. hält übrigens die geschilderte Rebenkrankheit für nicht besonders besorgniserregend.  
Moritz (Berlin).

**Ravaz, L.,** Ueber eine Bakterienkrankheit der Reben. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten 1896. Heft. 1. p. 41; daselbst nach: Rev. de viticulture. 1895. p. 12.)

Auf der Insel Oléron ist seit einigen Jahren eine Krankheit an den Reben aufgetreten, welche auf den Einfluß von Bakterien zurückgeführt wird. Das Uebel zeigte sich hauptsächlich an den Rebsorten Mourvèdre und Alicante Bouschet, während Aramon und die amerikanischen Reben der Krankheit zu widerstehen scheinen. Als vorbeugendes Mittel wird das Bestreichen der Reben mit 10-proz. Kupfersulfatlösung empfohlen.

Die erwähnte Rebenkrankheit soll mit der als „Gommose bacillaire“ bezeichneten nicht identisch sein.

**Viala, P.,** Ueber die Entwicklung des Black Rot bei der Rebe. (Compt. rend. de l'acad. d. sciences. 1896. Sem. II. No. 21. p. 905.)

Die Fortpflanzungsformen von *Guignardia Bidwellii* sind: Pykniden, Spermogonien, Perithezien, Konidien, Sklerotien und den Chlamydosporen analoge Mycelsporen. Verf. teilt einige Beobachtungen über die konidientragende Form des genannten Pilzes mit, welche die ungewöhnlich starke und schnelle Ausbreitung gewisser Infektionen im südwestlichen Frankreich zu erklären geeignet sind.

Moritz (Berlin).

**Viala, P.,** Ueber das Vorkommen des Black Rot im Kaukasus. (Die Weinlaube. 1896. No. 47. p. 554.)

Verf. fand auf Weinbeeren aus dem Kaukasus *Guignardia Bidwellii* und zwar Mitte Oktober bereits die Perithezien dieses Pilzes, welche bisher an kranken Beeren erst nach der Ueberwinterung auf dem Boden, im Mai und anfangs Juni, beobachtet worden sind.

Moritz (Berlin).

**Ráthay, E.,** Ueber den Black Rot. (Die Weinlaube. 1896. No. 48. p. 566—570. No. 49. p. 578—580. No. 50. p. 590—592. Mit 5 Abbildungen.)

Verf. macht auf die Gefahr aufmerksam, welche dem Weinbau durch die Einschleppung der Black Rot-Krankheit erwachsen würde. Es gelangen zur Erörterung: 1) Die Ursache und die äußeren Kennzeichen des Uebels. 2) Die Verbreitung desselben in Frankreich. 3) Der durch den Black Rot angerichtete Schaden, welcher 1895 im Armagnac 25 Millionen Franken überstieg. 4) Die Bekämpfung des Uebels mit Kupfermischungen, welche bis jetzt meist mit Mißerfolgen endete. 5) Die Verbreitung der Krankheit, welche durch Samen und durch Schnittreben erfolgen kann. Die von *Vitis rotundi-*

folia stammenden Sorten, Scuppernong und Thomas, sind die einzigen Rebsorten, deren Früchte niemals vom Black Rot zerstört werden. 6) Der Black Rot ist bisher in Oesterreich nicht beobachtet worden. Die gegenteiligen Behauptungen beruhen auf Irrtum. 7) Die Ansicht, daß in Oesterreich die Bedingungen zur Entwicklung des Black Rot fehlen, ist für die südlichen Weinländer, wie Küstenland und Südtirol, nicht zutreffend. 8) Maßregeln behufs Verhinderung der Einschleppung des Uebels. Als solche werden genannt: a) Verbot der Einfuhr amerikanischer Reben; b) Desinfektion der einzuführenden Reben; c) Errichtung von Quarantäne-Rebschulen außerhalb der Weingebiete, in welchen aus dem Auslande eingeführte Reben eine Gesundheitsprobe zu bestehen haben, bevor sie in die Weingebiete ausgepflanzt werden. Moritz (Berlin).

Cuboni, G., Ueber die durch *Botrytis cinerea* bedingte Fäulnis der Rebentriebe. (Bollettino di Notizie agrarie. 1896. Sem. II. No. 40. p. 487.)

Es erscheint zunächst ein kleiner brauner Fleck an der Insertionsstelle des neuen, grünen Triebes an dem verholzten Triebe des Vorjahres. Dieser braune Fleck dehnt sich längs des ersten Internodiums mit bemerkenswerter Schnelligkeit aus, oft nur von einer Seite, seltener ringsherum, und in letzterem Falle wird der Trieb von glasartiger Brüchigkeit an der Insertionsstelle, so daß er sich sehr leicht ablöst. Die Krankheitserscheinungen, welche die Triebe zeigen, dehnen sich selten auf die Blattstiele und Blattflächen, noch seltener auf die Beerenstiele aus. Wenn der Blattstiel ergriffen ist, zeigt er eine Bräunung, welche an der Basis beginnt und nach der Blattfläche zu rasch fortschreitet. Nicht selten löst sich der Blattstiel los; öfter fault er, wenn die Bräunung genügend fortgeschritten ist. Die Blätter werden auch direkt befallen und der Parasit bewirkt dann auf ihnen breite, braune, dürre Flecken, welche in der feuchten Kammer bald die charakteristischen Konidienträger von *Botrytis cinerea* liefern.

In dem angegriffenen Gewebe, insbesondere reichlich in den Zellen des Markes, findet man das Mycel des Pilzes. Die Zellen des Markes werden rasch zerstört, gebräunt und häufig verschwindet das Mark fast ganz oder verwandelt sich in eine faulige Masse.

Das Mycel befällt auch alle weichen Gewebe der Rinde und des Holzkörpers, zerstört das Kambium und erfüllt die jungen Gefäße. Es häuft sich in großer Menge besonders im Mark an und bildet bei fortgeschrittener Fäulnis des Triebes Sklerotien, welche zuerst weiß sind, später aber vollkommen schwarz werden, eine linsenförmige Gestalt und oft eine faltige Oberfläche besitzen. Auch an der Oberfläche der Triebe bilden sich in der feuchten Kammer Sklerotien, welche eine kugelförmige Gestalt und unregelmäßig gefaltete Oberfläche haben und manchmal die Größe einer Erbse erreichen. — Verf. stellte auch künstliche Infektionsversuche an, welche zum Teil gelangen. Es sei noch erwähnt, daß die beschriebenen Krankheitserscheinungen sich bisher nur vereinzelt an wenigen Reben gezeigt haben. Moritz (Berlin).

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Wahl, R.,** Die Vorteile der Anwendung einer höheren Anstelltemperatur zur Einleitung der Untergärung. (Der Bierbrauer. 1896. Jahrg. XXVII. p. 83—87.)

Nach diesem neuen System wird die Hefe mit Vorderwürze von  $12^{\circ}$  R in den Anstellbottich gegeben, und zwar wird die Hefe so vorbereitet, daß die Masse gerade ausgärt, wenn die erste Würze vom Baudelot-Kühler im Anstellbottich anlangt. Es läuft so die Würze zur Hefe und nicht umgekehrt. Auch schreckt man die Hefe auf diese Weise nicht so plötzlich ab, als wenn man die mit  $12^{\circ}$  herbeigeführte Hefe in die große Masse der auf  $4\frac{1}{2}^{\circ}$  abgekühlten Würze einführt.

Das Herbeiführen ist also von so großem Vorteil, weil:

- 1) die Hefe durch das Herführen bei höherer Temperatur gekräftigt wird;
- 2) die Hefe bereits angefangen hat sich zu vermehren, während die Würze hinzuläuft;
- 3) eine kräftige und in Vermehrung begriffene Hefe schneller Kräusen treibt, und so das Bier schneller der Gefahr überhandnehmender Infektion entrückt wird.

Nach Munsche kann man auch durch Anwendung höherer Gärtemperaturen Kulturhefe von wilder Hefe befreien; Delbrück spricht sich ebenfalls ganz entschieden für höhere Gärtemperaturen aus, als sie in Deutschland allgemein üblich sind, und weist auf die Vorteile des amerikanischen Gärsystems hin.

Irgendwelche Nachteile in betreff der Haltbarkeit, der Glanzfeinheit, der Vollmundigkeit, der Schaumbeständigkeit u. s. w. haben sich nicht ergeben, so daß der ganz stattlichen Reihe von Vorteilen nichts Nachteiliges gegenübersteht.

E. Roth (Halle a./S.).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Wehmer, C.,** Einige vergleichende Versuche über das antiseptische Verhalten der Benzoësäure und ihrer 3 isomeren (Mono-) Oxysäuren. (Chemikerzeitung. 1897. No. 10. p. 73.)

Verf. hat über die antiseptische Wirkung obiger 4 Säuren bei verschiedener Konzentration vergleichende Versuche sowohl in Beziehung auf Hefewachstum und Gärung, als auch auf Schimmelbildung und Bakterienentwicklung (spontane Gärung), angestellt. Die Versuche wurden mit Reinhefe (Frohberg) und verdünnter ungehopfter Bierwürze (ca.  $6^{\circ}$  Sacch.) durchgeführt. Die Resultate dieser Untersuchungen lassen sich in Kürze wie folgt zusammenfassen.

1) In einer Konzentration von 0,02 Proz. sind obige 4 Säuren sowohl gegen Hefewachstum und Gärung, als auch gegen Schimmelbildung und Bakterienentwicklung ziemlich gleichmäßig unwirksam.

2) In der Konzentration von 0,1 Proz. sind m- und p-Oxybenzoësäure nicht imstande, die Gärung zu unterdrücken, wogegen Benzoësäure und Salicylsäure keine Hefeentwicklung aufkommen lassen. Sie wirken zwar in dieser Stärke noch keineswegs unter allen Umständen antiseptisch, da hierbei sowohl die Art der Nährlösung, als auch die Art und Zahl der eingepfropften Keime, sowie deren Entwicklungszustand eine Rolle spielt; in den meisten Fällen genügt aber zur dauernden Konservierung 0,2 Proz. Benzoë- oder Salicylsäure. Interessant ist hierbei, daß von den 3 Ortsisomeren nur das o-Oxyderivat physiologisch der Benzoësäure gleicht.

L. Steuber (München).

**Sajó, Carl, Die Bekämpfung der Spargelfeinde.** (Oesterr. landwirtschaftl. Wochenbl. 1897. p. 59.)

Zur Bekämpfung des Spargelrostes sowie der Spargelkäfer und -fliegen empfiehlt es sich, den Spargel bis Juni so ausgiebig zu schneiden, daß selbst von den dünnen und krüppelhaften Stengeln nichts über der Erdoberfläche verbleibt. Auf diese Weise fand Verf. bis Ende September keine Spur von Rost und auch von den Insekten schadete ausschließlich nur die kleine schwarze Spargelfliege (*Agromyza maura*), welche offenbar nicht ausschließlich an den Spargel als Nährpflanze gebunden ist. Verf. hofft, daß diese heroische Kur seiner Anlage keinen Schaden zugefügt haben dürfte, nachdem sich dieselbe anfangs November in vollkommen normalem, gutem Zustand befand. Bei noch jungen, nicht schnittreifen Anlagen kann dieses Verfahren natürlich nicht in Anwendung kommen, sondern nur bei schon gekräftigten, vollwüchsigen, mehrjährigen Pflanzen. Für eine junge Anlage sollte man daher immer einen Ort bestimmen, in dessen Umgebung kein Spargel wächst, um eine Invasion von außen auszuschließen. Ist an Stelle einer veralteten Anlage eine junge Pflanzung herzurichten, so sollte man nach Rodung der alten Pflanzung ein Jahr lang mit dem Spargelbau aussetzen und die jungen Pflanzen erst im zweiten Jahr einsetzen. Im Brachjahr muß natürlich genau nachgesehen werden, damit alle auf der Rodung noch zum Vorschein kommenden Triebe und Sämlinge gründlich ausgerottet werden.

Stift (Wien).

**Maßregeln gegen „Black Rot“ in Frankreich.** (Allgem. Weinzeitung. 1896. No. 53. p. 524.)

Im Dezember 1896 hat zu Bordeaux ein Kongreß stattgefunden, auf welchem die Maßregel zur Bekämpfung des Black Rot beraten wurden. Aus den zahlreichen Beschlüssen der genannten Versammlung geht deutlich hervor, daß man der erwähnten Rebenkrankheit noch ziemlich machtlos gegenübersteht.

Moritz (Berlin).

**Guiraud, Der Kampf gegen den Black Rot.** (Moniteur vinicole. 1896. No. 30. p. 118).

Verf. bezeichnet den sublimierten Schwefel als eines der wirksamsten Mittel gegen die Verbreitung des Black Rot. Als vorbeugende Mittel sollen sich die Kupfersalze mit gutem Erfolge anwenden lassen.  
Moritz (Berlin).

### Corrigendum.

Auf p. 219. No. 9/10 ist in der Fußnote statt 50—40 zu lesen: 30—40 Millionen Mark.

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat. Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Arbeiten auf dem Gebiete der pathologischen Anatomie und Bakteriologie aus dem pathologisch-anatomischen Institut zu Tübingen, hrsg. von P. v. Baumgarten. II. Bd. 2. Heft. gr. 8°. III u. p. 171—319 m. 1 Abbildg. u. 7 lith. Taf. Braunschweig (Harald Bruhn) 1897. 7 M.
- Doyen, E. et Roussel, G., Atlas de microbiologie, par les Drs E. Doyen et G. Roussel, avec la collaboration de MM. E. Chasaren et F. Rothier. gr. 8°. Avec 541 fig. Paris 1897. 30 fr.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Hesse, W., Ueber den Ursprung der in Kulturgläsern auftretenden Kohlensäure. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVIII. 1897. Heft 4. p. 307—311.)
- Schürmayer, B., Eine Abänderung des automatischen Gasabschlusses beim Verlöschten der Flammen an Brutschränken. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 10. p. 400—401.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

- Bensley, E. R., Two forms of distomum cynoides. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 8/9. p. 326—331.)
- Bertrand, G., Sur la séparation de la laccase et de la tyrosinase contenues dans le suc de certains champignons. (Bullet. du Muséum d'hist. natur. 1896. No. 7. p. 358—360.)
- Claassen, E., List of the „white mildews“ (Erysipheae) of Cuyahoga county and of their host-plants. (Ann. rep. of the Ohio State Ac. of science. 1896. p. 31.)
- Correns, C., Schinia scirpicola spec. nov. (Hedwigia. 1897. Heft 1. p. 38—40.)
- Curel, V., Estudio sobre un fermento butyrico. (Anal. d. Museo nacion. de Montevideo. 1896. p. 1—68.)
- Diétel, F., Uredineae brasilienses a cl. E. Ule lectae. (Hedwigia. 1897. Heft 1. p. 26—37.)
- v. Dobrzyński, A. R., Ueber Leptothrix. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 6/7. p. 225—229.)
- Emmerling, O., Butylalkoholische Gärung. (Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. 1897. No. 4. p. 451—453.)
- , Ueber Schimmelpilzgärung. (Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. 1897. No. 4. p. 454—455.)
- Fischer, A., Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. gr. 8°. IX, 136 p. m. 8 lith. Taf. Jena (Fischer) 1897. 7 M.
- Focke, H., Recherches sur quelques oécidies foliaires. (Rev. génér. de botanique. 1896. No. 96. p. 491—499.)



- Gérard, E., Sur une lipase végétale extraite du *Penicillium glaucum*. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 7. p. 370—371.)
- Green, E. E., Coccidae of Ceylon. Pt. I. 80 p. Illustr. London (Dulan) 1897.
- Halban, J., Ueber die Resorption der Bakterien bei lokaler Infektion. (Aus: Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss.) gr. 8°. 103 p. m. 2 Taf. Wien (in Komm. Carl Gerold's Sohn) 1897. 2 M.
- Heim, F., Sur les champignons parasites dits microsporon. (Bullet. mens. de la soc. Linn. de Paris. 1896. No. 157. p. 1242.)
- Huber, J., Sobre a flora das saprophytas do Pará. (Boletim do Museu Paraense de histor. natur. e ethnogr. Vol. I. 1896. No. 4. p. 432—435.)
- Istvánffy, J., Neuere Untersuchungen über die die Brandkrankheiten an den Getreidearten verursachenden Schimmelpilze. [Kgl. ungar. naturwissensch. Gesellsch. zu Budapest.] (Botan. Centralbl. 1897. No. 9. p. 271—272.)
- Klebahn, H., Kulturversuche mit heteröcischen Rostpilzen. V. Bericht (1896). (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 5, 6. p. 257—270, 324—338.)
- Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungs-Organismen. Jahrg. V. 1894. gr. 8°. VIII, 309 p. Braunschweig (Bruhn) 1897. 9,60 M.
- Kusserow, R., Die quantitative Bestimmung der Hefe bei Gärversuchen. (Wchschr. f. Brauerei. 1897. No. 11. p. 117—118.)
- Lindau, G., Bemerkungen über die heutige Systematik der Pilze. (Botan. Centralbl. 1897. No. 14. p. 2—12.)
- Norton, J. B. S., A study of the Kansas ustilaginaceae, especially with regard to their germination. (Transact. of the Acad. of scienc. of St. Louis. 1896. No. 10. p. 229.)
- Petit, P., Composition d'une levure de Dortmund. (Journ. de distillerie franç. 1897. No. 665. p. 93—94.)
- Pfennigwerth, H., Schädliche Forstinsekten, ihre Lebensweise und Bekämpfung. 12°. 35 p. Reval (Wassermann) 1897. 0,60 M.
- Rose, E., L'*Amylotrogus*, un nouveau genre de myxomycètes. (Journ. de botanique. 1896. No. 24. p. 424—426.)
- Sanguinetti, J., Contribution à l'étude de l'*amylomyces Rouxii* de la levure chinoise et des moisissures ferments de l'amidon. (Annal. de l'Institut Pasteur. 1897. No. 3. p. 264—276.)
- Tracy, S. M. and Early, T. S., Mississippi fungi. (Mississ. agricult. college bull. 1896. No. 38.) 8°. 17 p.
- Wagner, G., Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenparasiten. II. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 6. p. 321—323.)
- Wortmann, J., Ueber die Entwicklung unserer Kenntnisse und Anschauungen von den Gärungsvorgängen. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 8—10. p. 59—61. 67—68, 75—78.)
- Zehntner, L., Lebenswijze en bestrijding der boorders. (Arch. v. d. Java-Suikerindustrie. 1896. Aflv. 10. 21 p., Aflv. 13. 21 p.)
- Zettnow, Ueber den Bau der großen Spirillen. (Ztschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXIV. 1897. Heft 1. p. 72—92.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Marpmann, Das Vorkommen von Bakterien und Pilzen in Schreib- und Schultintenn. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 6/7. p. 276—277.)

#### Fleisch.

- Frankreich. Verordnung des Ackerbauministers, betr. das Fleisch tuberkulöser Tiere. Vom 28. September 1896. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1897. No. 12. p. 274.)

#### Milch, Molkerei.

- Baier, E., Die Pilzflora der Milch und ihre Beziehungen zum Käseerfungsprozeß. (Milch-Ztg. 1897. No. 12, 13. p. 177—179, 193—194.)
- Cappelletti, E., Sul latte di Padova; ricerche chimico-batterologiche. (Ufficiali sanitario. 1896. Aprile, Maggio, Giugno.)
- Lavalle, A., Neuere Milch-Pasteurisir-Apparate in Dänemark. (Milch-Ztg. 1897. No. 8—12. p. 116—118, 134—135, 146—148, 162—164, 179—181.)
- Marpmann, Das Vorkommen von anaeroben Bakterien in frischer Kuhmilch. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 6/7. p. 280.)

## Bier, Brauerei.

- Fernbach, A., Action diastase. (La bière et les boissons fermentées. 1897. No. 1. p. 5—7.)  
 van Laer, H., Pasteurisation pour expédition en tonneaux. (Petit Journ. du brasseur.) (La bière et les boissons fermentées. 1897. No. 1. p. 3—5.)  
 Petit, P., L'influence du mode de brassage sur l'atténuation. (Brasseur franç.) (La bière et les boissons fermentées. 1896. No. 12. p. 187—189.)

## Wein, Weinbereitung.

- Cazenove, P., Sur le ferment soluble oxydant de la casse des vins. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 8. p. 406—408.)

## Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- de Freudenreich, E., Recherches bactériologiques sur le kéfir. (Annal. de microgr. 1897. No. 1. p. 5—33.)  
 Marpmann, Vorkommen von niederen Pilzen in Tafelsenf. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 6/7. p. 274—276.)  
 — —, Das Vorkommen von pathogenen Bakterien in Sauerkraut, sauren Gurken und Salat. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 6/7. p. 278—279.)

## Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Dumée, P., Note sur la destruction d'un parquet par le *Merulius lacrymans*. (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1896. p. 159.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Harmlose Bakterien und Parasiten.

- Hiltner, L., Ueber Entstehung und physiologische Bedeutung der Wurzelknöllchen. (Forstl.-naturwissenschaftl. Ztschr. 1897. p. 23.)

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Berger, Ueber eine Rübenkrankheit. (Bullet. Ass. belge chim. 1896. No. 10. p. 336. — Chemiker-Ztg. 1897. No. 6. p. 46.)  
 Cava, F., Ipertrofia ed anomalie nucleari in seguito a parassitismo vegetale. 8°. Pavia 1896.  
 Caseaux-Casalet, Traitement du black-rot. (Vigne franç. 1897. No. 3. p. 35—37.)  
 — —, Observations sur le traitement du black-rot. (Rev. de viticulture. 1897. No. 167. p. 234—236.)  
 Erdmann, R., Zurückgehen der Reben durch den Wurzelschimmel. (Allg. Wein-Ztg. 1897. No. 9. p. 92—95.)  
 Eriksson, J., Hvad är sädesrost och hvad kan göras mot densamma? Anvisningar och råd till Sveriges sädesodlare. 8°. 82 p. Stockholm (Norstedt & Söners) 1897.  
 Feckun, H., Etudes sur quelques galls. 8°. Paris (Soc. d'édit. scientif.) 1897. 4 fr.  
 Frank, Neue Ergebnisse über die Ursachen der Kartoffelfäule. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1897. No. 14, 16. p. 113—114, 134—135.)  
 — —, Ueber Hers- und Trockenfäule der Zuckerrüben. (Ztschr. f. Rübens. 1896. No. 46. p. 901.)  
 Galloway, B. T., A rust and leaf casting of pine leaves. (University of Chicago Press.) 8°. 20 p. Chicago 1896.  
 Graham, J. D., Corn smut. (Exper. Station of the Kansas State agricult. college. 1896. Bull. 62. p. 169—212.)  
 Hollrung, M., Achter Jahresbericht über die Thätigkeit der Versuchsstation für Nematodenverteilung und Pflanzenschutz in Halle a. S. gr. 8°. 72 p. Halle 1896.  
 v. Janczowski, E., Ueber Getreide-Ustilagineen in Samogitien. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 1. p. 1—4.)  
 Mangin, L., Sur la maladie de la gomme chez le Cacaoyer. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 6. p. 312—315.)  
 Mohr, C., Beitrag zur Bekämpfung der Reblausgefahr. 8°. 2 p. Köln (Dumont) 1897.  
 Nijpels, P., Les champignons nuisibles aux plantes cultivées et les moyens de les combattre. 8°. 96 p. avec grav. et fig. Liège 1896. 2 fr.

**Pfennigwerth, H.**, Schädliche Forstinsekten, ihre Lebensweise und Bekämpfung. Praktischer Leitfaden zum Gebrauch f. Forstlehrlinge u. Waldbesitzer. Unter besond. Berücksicht. balt. Verhältnisse. 12°. 85 p. Reval (Ferd. Wassermann) 1897. 0,60 M.

**Sajó, K.**, Beobachtungen über die Dürffleckenkrankheit der Kartoffel im Jahre 1896. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII, 1897. Heft 1. p. 4—8.)

**Schlemens, P.**, Zur Bekämpfung des schwarzen Kornwurmes *Sitophilus* (*Calandra*) *granarius* L. (Wehschr. f. Brauerei. 1897. No. 2. p. 89—94.)

**Schöyen, W. M.**, Om potetsygen og dens becksjampelse, specielt ved kobbermidler. (Separatastryk af „Tidskr. f. d. Norske Landsbrug“.) 8°. 19 p. Christiania 1896.

—, Rust paa stockroser (*Puccinia Malvacearum*). (Norsk Havetidende. 1896.) 8°. 4 p.

**Smith, E. F.**, A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato. (U. S. Departm. of Agricult., Divis. of veget. phys. and path. 1896. Bull. No. 12.)

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.

**Ampola, G. u. Garino, E.**, Ueber Denitrifikation. (Orig.), p. 309.

**Eriksson, Jakob**, Neue Beobachtungen über die Natur und das Vorkommen des Kronenrostes. (Orig.), p. 291.

**Johan-Olsen, Olav**, Zur Pleomorphismusfrage. (Orig.), p. 273.

**Smith, Erwin F.**, *Pseudomonas campestris* (Pammel). The cause of a brown rot in cruciferous plants. (Orig.), p. 284.

**Stutzer, A. u. Hartleb, E.**, Der Salpeterpilz. (Orig.) [Forts.], p. 311.

### Referate.

**Aeby, J., Dorsch, B., Mats, Fr. u. Wagner, Paul**, Forschungen über den relativen Düngewert und die Konservierung des Stallmiststickstoffs. I., p. 325.

**Barbut**, Ueber eine Bakterienkrankheit der Reben, p. 328.

**Bendixen, N.**, Die Mikroorganismen im Molkereibetriebe, p. 321.

**Conrad, E.**, Bakteriologische und chemische Studien über Sauerkrautgärung, p. 324.

**Cuboni, G.**, Ueber die durch *Botrytis cinerea* bedingte Fäulnis der Rebentriebe, p. 330.

**Dietzel, B. E.**, Versuche über die Konservierung des Stallmistes, p. 325.

**Einecke, A.**, Beiträge zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung von Säften verschiedener Stachel-, Johannis- und Erdbeersorten, p. 323.

**Emmerling, O.**, Butylalkoholische Gärung, p. 323.

—, Schimmelpilzgärung, p. 323.

**Forschungen** über die zweckmäßige Behandlung des Stallmistes, p. 325.

**Pfeiffer, Th., Franke, E., Goetsch, C. u. Thurmann, H.**, Beiträge zur Frage über die bei der Fäulnis stickstoffhaltiger organischer Substanzen eintretenden Umsetzungen, p. 325.

**Räthay, E.**, Ueber den Black Rot, p. 329.

**Ravaz, L.**, Ueber eine Bakterienkrankheit der Reben, p. 329.

**Russell, H. L.**, Outlines of dairy bacteriology, a concise manual for the use of students in dairying, p. 321.

**Viala, P.**, Ueber die Entwicklung des Black Rot bei der Rebe, p. 329.

—, Ueber das Vorkommen des Black Rot im Kaukasus, p. 329.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

**Wahl, E.**, Die Vorteile der Anwendung einer höheren Anstalltemperatur zur Einleitung der Untergärung, p. 331.

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Guiraud, Der Kampf** gegen den Black Rot, p. 332.

**Maßregeln** gegen „Black Rot“ in Frankreich, p. 332.

**Sajó, Carl**, Die Bekämpfung der Spargel-Feinde, p. 332.

**Wehmer, C.**, Einige vergleichende Versuche über das antiseptische Verhalten der Benzoesäure und ihrer 3 isomeren (Mono-) Oxyssäuren, p. 331.

### Corrigendum, p. 333.

### Neue Litteratur, p. 333.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg  
herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel**

und

**Prof. Dr. J. H. Vogel,**

Vorsteher der Versuchsstation der Deutschen Landw. Gesellschaft in Berlin.

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 29. Juli 1897.**

**No. 18/14.**

---

Jährlich erscheinen 36 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 18 Mark.

Hierzu als regelmäßige Beilagen die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

---

## **Original-Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Essig- säurebakterien.**

[Aus dem gärungsphysiologischen Laboratorium der k. k. chemisch-  
physiologischen Versuchsstation für Wein- und Obstbau  
in Klosterneuburg bei Wien.]

Von

**W. Seifert,**

Adjunkt an der k. k. Versuchsstation in Klosterneuburg.

Seitdem E. Ch. Hansen nachgewiesen hatte, daß der früher  
unter dem Namen „Mycoderma aceti“ bekannte Erreger der  
Essigsäuregärung nicht eine einheitliche Bakterienart darstellt, indem  
er daraus drei verschiedene Arten isolierte und in ausführlicher Weise

beschrieb, mußte sich von selbst die Frage ergeben, ob dieselben auch in physiologischer Beziehung, insbesondere in Bezug auf ihre chemische Wirkung, wesentliche Verschiedenheiten aufweisen. Diese Frage bietet nicht allein wissenschaftliches, sondern auch ganz besonders praktisches Interesse, zumal gerade die Essigindustrie in ihrem Betriebe mit mancherlei Uebelständen zu kämpfen hat und die Verwendung planmäßig ausgewählter Gärungserreger sich auch hier in hervorragender Weise nützlich erweisen würde.

Für die Ausführung der vorliegenden Arbeit war die Erwägung maßgebend, ob die verschiedenen Essigsäurebakterien in ihrer Oxydationswirkung auf verschiedene ein- und mehrwertige Alkohole sowie auf einige Zuckerarten besondere Unterschiede zeigen. Hierbei wurde vorwiegend die chemische Seite dieser Frage ins Auge gefaßt; trotzdem wäre es wünschenswert gewesen, auch dem physiologischen Zustande der Bakterienvegetationen in den einzelnen Stadien der Versuche eingehendere Berücksichtigung widerfahren zu lassen, doch soll diesen Verhältnissen in einer folgenden Abhandlung Rechnung getragen werden.

Die Versuche, welche durchwegs vergleichender Natur sind und demgemäß unter möglichst gleichen Bedingungen angestellt wurden, umfassen hauptsächlich zwei von Hansen genau beschriebene Arten: *Bacterium Pasteurianum* und *Bacterium Kützingianum*; in einzelne Versuchsreihen wurden auch *Bacterium aceti* Hansen und eine mit *Bact. xylinum* Brown wahrscheinlich identische Art einbezogen. Die Reinkulturen der drei erstgenannten Bakterienarten wurden mir seiner Zeit in liebenswürdigster Weise von Herrn Prof. Dr. E. Ch. Hansen zur Verfügung gestellt, und ergreife ich an dieser Stelle mit Vergnügen die Gelegenheit, demselben hierfür meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Im allgemeinen lehnen sich die folgenden Versuche an diejenigen von Adrian J. Brown an<sup>1)</sup>, welche zur Ausführung derselben die erste Anregung gaben; da sie fast unter den nämlichen Bedingungen, wie die Brown'schen Versuche ausgeführt wurden, so gestatten sie gleichzeitig einen Vergleich mit dem Brown'schen *Bact. aceti*, welches mit dem von Hansen beschriebenen nicht identisch zu sein scheint, demselben jedoch morphologisch sehr nahe steht.

Im Anschluß an diese Arbeit sollen noch einige morphologische Untersuchungen über Essigsäurebakterien des Weines kurz mitgeteilt werden.

---

Obgleich bereits Kützing<sup>2)</sup> im Jahre 1837 erkannt hatte, daß die Essigbildung auf die Lebensthätigkeit kleiner pflanzlicher Organismen zurückzuführen sei, welche er mit dem Namen „*Ulvina aceti*“ bezeichnete, so konnte sich diese Anschauung doch lange Zeit hindurch keine Geltung verschaffen, nachdem sehr bedeutende Chemiker und voran Liebig die Bildung von Essigsäure in rein chemisch-

---

1) A. J. Brown, The chemical action of pure cultivations of *Bacterium aceti*. (Journ. chem. Soc. Vol. XLIX. 1886. p. 172.)

2) Kützing, Die Essigmutter. (Journ. f. prakt. Chem. 1837. p. 390.)

physikalischem Sinne zu erklären suchten<sup>1)</sup>. Nach Liebig war die Essigmutter nichts anderes als ein stickstoffhaltiger, hochorganisierter Körper, der an der Luft leicht Veränderungen ausgesetzt ist und diese „chemische Bewegung“ auf das Alkoholmolekül überträgt, dessen Zersetzung dadurch herbeigeführt wird. Für diese Erklärung schien ihm namentlich die Eigenschaft des Platinschwarz zu sprechen, von welchem schon E. Davy (1821) nachgewiesen hatte, daß unter dessen Einwirkung Alkohol in Essigsäure verwandelt werde. Danach wirkte die Essigmutter, nach Liebig ein verwesendes organisches Ferment, wie Platinschwarz als Sauerstoffüberträger.

Diese Anschauung wurde im Jahre 1862 durch Pasteur einigermaßen alteriert, welcher die Kützing'sche Auffassung wieder zu Ehren brachte und die Essigmutter als eine Vegetation betrachtete, welche lebend die Uebertragung des Sauerstoffs auf den Alkohol vollzieht. Allzu große Bedeutung kann man heute der damaligen Auffassung Pasteur's allerdings auch nicht zuerkennen, nachdem er im übrigen die Wirksamkeit des Essigpilzes in keiner anderen Weise erklärte, als es Liebig gethan hatte und er gleichfalls dieselbe mit der des Platinschwammes als gleichartig ansah.

Erst Knierim und Mayer<sup>2)</sup> blieb es vorbehalten, auf experimentellem Wege den rein physiologischen Vorgang bei der Essiggärung klarzustellen und die Liebig'sche Theorie vollständig zu Fall zu bringen. Danach stellt sich die Essiggärung als wesentlich identisch mit dem Gesamtstoffwechsel der Essigbakterien dar.

Eine bedeutende Erweiterung unserer Kenntnisse vom Essigpilz verdanken wir vornehmlich in morphologischer Beziehung den Untersuchungen von E. Ch. Hansen<sup>3)</sup>, welcher im Jahre 1879 zuerst den Beweis erbrachte, daß der unter dem Namen „*Mycoderma aceti*“ bekannte Erreger der Essiggärung keine einheitliche Art darstellt, sondern zum mindesten aus zwei verschiedenen Arten besteht, welche er in der Folge *Bacterium aceti* und *Bacterium Pasteurianum* benannte. Im Jahre 1886 wurden diese beiden Arten noch durch das von A. Brown<sup>4)</sup> beschriebene *Bacterium xylinum* und späterhin durch das von Hansen entdeckte und von ihm genau untersuchte *Bacterium Kützingianum* vermehrt<sup>5)</sup>.

Seitdem wurden auch von anderen Forschern, wie W. Peters<sup>6)</sup>,

1) Liebig, *Annal. d. Chem. u. Pharm.* Bd. XXX. 1839.

2) Knierim und Mayer, Ueber die Ursache der Essiggärung. (*Landwirtschaftl. Versuchstationen.* Bd. XVI. 1873. p. 305.)

3) E. Ch. Hansen, *Mycoderma aceti* (Kütz.) Pasteur et *Myc. Pasteurianum* nov. sp. (*Meddel. fra Carlsberg Labor.* Bd. I. 1879.)

4) A. J. Brown, On an acetic ferment, which forms cellulose. (*Journ. of the Chem. Soc.* Vol. XLIX. 1886. p. 432.)

5) E. Ch. Hansen, Undersøgelser over Eddikesyrerbakterier. (*Meddel. f. Carlsb. Labor.* Bd. III. 1894. p. 265.)

6) W. Peters, Die Organismen des Sauerteiges und ihre Bedeutung für die Brotgärung. (*Bot. Zeit.* 1889. p. 405.)

A. Zeidler<sup>1)</sup>, Wermisheff<sup>2)</sup> und F. Lafar eine Reihe von Essigbakterien aufgefunden, welche zum Teil mit den vorher genannten identisch sein dürften, zum Teil in systematischer Beziehung dem *Bact. aceti* Hansen nahestehen.

Im Jahre 1886 hatte Brown<sup>3)</sup> die chemische Wirksamkeit der Essigsäurebakterien einem eingehenden Studium unterworfen und gefunden, daß sein *Bacterium aceti*<sup>4)</sup>, welches er aus essigsauer gewordenem Bier isoliert hatte, Aethylalkohol zu Essigsäure, normalen Propylalkohol zu Propionsäure oxydiert, während Methylalkohol, Isobutylalkohol und Amylalkohol dadurch keine Veränderung erfahren; weiter prüfte er das Verhalten zu mehrwertigen Alkoholen und stellte fest, daß durch die Oxydationswirkung seines Bakteriums Glycerin hauptsächlich zu Kohlensäure und Wasser zerfällt, Aethylenglykol in Glykolsäure, Mannit in Lävulose verwandelt werden, dagegen Dulcitol unverändert bleibt. Von Kohlehydraten erleidet nach Brown nur Glykose eine Oxydation zu Glykonsäure, während Lävulose, Saccharose, Laktose und Stärke keiner Veränderung unterliegen.

Die Oxydation von Glykose zu Glykonsäure durch Essigsäurebakterien wurde allerdings bereits im Jahre 1880 von Boutroux<sup>5)</sup> beobachtet; er erhielt diese Säure, als er Traubenzucker mit Hefewasser und Kreide sich selbst überließ. Doch dürfte eine einheitliche Bakterienart hier kaum thätig gewesen sein, obwohl Boutroux diese Wirksamkeit einer besonderen Art zuschreibt, welche er als *Micrococcus oblongus* bezeichnet.

In jüngster Zeit hat G. Bertrand<sup>6)</sup> die interessante Tatsache festgestellt, daß durch die oxydierende Wirkung von Essigbakterien der im vergorenen Fruchtsaft der Ebereschen (*Sorbus aucuparia*, *S. intermedia* und *S. latifolia*) enthaltene Sorbit in Sorbose übergeführt wird. Obwohl diese Zuckerart bereits Pelouze<sup>7)</sup> im Jahre 1852 im Ebereschensaft, der länger als 1 Jahr sich selbst überlassen wurde, so gelang es doch erst Bertrand, die biologische Entstehungsweise desselben nachzuweisen. Die Bakterienart, welche diesen chemischen Prozeß verursacht, ist nach Bertrand entweder mit *Bact. xylinum* Brown identisch oder diesem wenigstens sehr nahestehend.

Vergleichende Untersuchungen über das Gärvermögen von *Bact.*

1) A. Zeidler, Beiträge zur Kenntnis einiger in Würze und Bier vorkommender Bakterien. (Wochenschr. f. Brauerei. 1890. p. 1213.)

2) Wermisheff, Recherches sur les microbes acétifiants. (Annal. de l'Institut Pasteur. 1893. p. 213.)

3) l. c.

4) Nach Brown besitzt die auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit wachsende Membran dieses Bakteriums die Eigenschaft, an der Wandung des Kulturgefäßes emporzuklettern; dadurch unterscheidet sich dasselbe wesentlich von dem *Bact. aceti* Hansen, welchem diese Eigentümlichkeit nicht zukommt.

5) L. Boutroux, Sur une fermentation nouvelle du glucose. (Compt. rend. T. XCI. 1880. p. 236.)

6) G. Bertrand, Préparation biochimique du sorbose. (Compt. rend. T. CXXXII. 1896. p. 900.)

7) Pelouze, Annal. de Chim. et de Physique. Sér. III. T. XXXV. p. 222.

*aceti* und *Bact. Pasteurianum* Hansen wurden von F. Lafar<sup>1)</sup> ausgeführt; derselbe beobachtete namentlich den Einfluß, welchen die Temperatur auf das Gärvermögen dieser beiden Bakterienarten ausübt und fand, daß *Bact. aceti* auf hellem Lagerbier auch bei 4–4,5° C sich noch entwickelt und kräftige Säuerung durchführt, während *Bact. Pasteurianum* selbst bei 4,5–5° C (weder das eine noch das andere vermag) nicht mehr zur Entwicklung gelangt.

Die Wirkung verschiedener äußerer Einflüsse auf die Entwicklung der Essigbakterien und auf den Verlauf der Essigsäuregärung wurde auch von anderen Forschern studiert. So hat Giunti<sup>2)</sup> gefunden, daß direktes wie diffuses Sonnenlicht die Entwicklung der *Mycoderma aceti* und damit die Essiggärung hindern, ersteres bei längerer Einwirkung den Pilz aber nicht völlig tötet; Giunti glaubt, daß es auf diese Weise möglich wäre, im Wein die Essigsäurebildung zu verhüten. Tolomei<sup>3)</sup> bemerkt hierzu, daß die Verhinderung der Entwicklung der Essigsäurebakterien durch das Licht nur auf die chemischen Strahlen zurückzuführen ist, nachdem die Ausscheidung derselben aus dem bestrahlenden Lichte fast ebenso wie die Dunkelheit begünstigend auf die Essiggärung wirkt.

Tolmei<sup>4)</sup> untersuchte außerdem die Einwirkung der Elektrizität auf die Essiggärung; zu diesem Behufe ließ er in etwas größerer oder geringerer Entfernung über der Oberfläche von Flüssigkeiten, welche sich im Zustande der Essiggärung befanden, zwischen zwei Leitungsdrähten Funken aus einem Ruhmkorff'schen Apparat überspringen. Durch schwache Entladungen wurde die Entwicklung der Essigbakterien weder gehindert noch begünstigt, durch starke dagegen zum Stillstand gebracht. Hört die elektrische Wirkung auf, so schreitet die Entwicklung wieder fort, nur in etwas vermindertem Grade.

Nach Hirschfeld<sup>5)</sup> wird die Essiggärung durch Zusatz von 0,01–0,02 Proz. Salzsäure energisch, durch stärkere Gaben weniger beschleunigt, während 0,06–0,07 Proz. Salzsäure die Gärung bereits sistieren, ohne die Bakterien zu töten. 0,1 Proz. Phosphorsäure wirkt gleichfalls gärungshemmend. Da es jedoch nicht sicher ist, ob diese Versuche auch mit vollständig sterilen Kulturflüssigkeiten und reinem Bakterienmaterial ausgeführt wurden, so sind die Angaben Hirschfeld's jedenfalls mit einigem Vorbehalt aufzunehmen.

Bezüglich der Einwirkung der Essigsäure auf die Essigbildung durch die Fermentorganismen teilt Steinmetz<sup>6)</sup> auf Grund seiner

1) F. Lafar, *Physiolog. Studien über Essiggärung und Schnellessigfabrikation.* (Centralbl. f. Bakteriöl. u. Parasitenk. II. Abt. Bd. I. 1895. p. 129.)

2) M. Giunti, *Sull' azione della luce sulla fermentazione acetica.* (Stazione sperim. agrar. ital. T. XVIII. Fasc. II; R. Koch's Jahresber. 1890. p. 139.)

3) G. Tolmei, *Einwirkung des Lichtes auf die Essiggärung.* (Chem. Centralbl. Bd. II. 1891. p. 254.)

4) G. Tolmei, *Einwirkung der Elektrizität auf die Essiggärung.* (L'Orosi. Vol. XIII. p. 401; Chem. Centralbl. Bd. I. 1891. p. 458.)

5) Hirschfeld, *Die Einwirkung des künstlichen Magensaftes auf Essigsäure- und Milchsäuregärung.* (Pflüger's Archiv. Bd. XLVII. 1890. p. 510; nach Koch's Jahresber. 1890. p. 139.)

6) O. Steinmetz, *Neuerungen auf dem Gebiete der Essigindustrie.* (Chemikerzeitung. 1892. p. 1723.)



langjährigen praktischen Erfahrungen mit, daß die Eigenart der verschiedenen Species des Essigfermentes von dem Säuregehalt des in dem Bildner produzierten Essigs abhängt, die höher prozentigen Essig erzeugenden Bakterien sich unter sonst gleichen Bedingungen langsamer vermehren als solche, welche Essig von niedrigerem Prozentgehalt erzeugen, daß ferner die Fermentorganismen desto mehr Nährstoff bedürfen, je höher der Säuregehalt des zu produzierenden Essigs ist und sie schließlich absterben, sobald der Säuregehalt 14 Proz. übersteigt. Inwieweit diese Behauptungen richtig sind, wird durch völlig einwandfreie experimentelle Untersuchungen wohl erst noch klargestellt werden müssen.

Bezüglich der Einwirkung antiseptisch wirkender Stoffe, insbesondere der Flußsäure und der Fluorverbindungen auf die Entwicklung von *Bact. aceti* haben Jörgensen und Holm<sup>1)</sup> gefunden, daß entgegen den Angaben Effront's über das von ihm zur Reinigung der Brennerhefe empfohlene Verfahren diese Antiseptica in Lösungen von 0,3, 0,5 und 0,8 Proz. sich nicht nur als wirkungslos erwiesen, sondern in manchen Fällen sogar das Wachstum dieser Bakterienart begünstigten.

Effront und Sorel<sup>2)</sup> wollen weiter gefunden haben, daß die Essigsäurebakterien unter der Einwirkung von Fluoriden den Alkohol zu Kohlensäure und Wasser und beinahe gar nicht zu Essigsäure oxydieren; danach bildeten die Essigsäurebakterien ohne Fluorwasserstoffsäure aus 100 Teilen Alkohol 97,08 Teile Essigsäure, mit 25 mg dagegen nur 76,94, mit 50 mg 32,34 und mit 120 mg nur 2,62 Teile Essigsäure. Die Bestätigung dieser Befunde bleibt jedenfalls noch abzuwarten. Demzufolge käme unter dem Einflusse von Fluoriden die Wirkung der Essigsäurebakterien jener des Kahmpilzes (*Mycoderma vini*) nahezu gleich.

Daß Essigsäure durch die Essigsäurebakterien schließlich zu Wasser und Kohlensäure oxydiert wird, hatte bereits Pasteur festgestellt; diese Thatsache wurde auch durch A. Brown<sup>3)</sup> und in der jüngsten Zeit durch F. Lafar<sup>4)</sup> bestätigt, welcher fand, „daß die Verbrennung der Essigsäure nicht erst dann beginnt, wenn aller Alkohol verbraucht ist“, sondern bereits während der Essigsäurebildung stattfindet. Nähere Untersuchungen in dieser Richtung stehen jedoch noch aus und hat sich Lafar dieselben vorbehalten.

Nach dem soeben genannten Forscher sind es nicht allein die Essigsäurebakterien, welche kräftige Essigsäuregärung hervorzurufen vermögen, auch gewisse Sproßpilze sind dazu befähigt<sup>5)</sup>. Er sagt

1) Jörgensen und Holm, Ueber das Effront'sche Verfahren zur Reinigung bzw. Konservierung der Hefe mittelst Flußsäure oder Fluoriden. (Chemikerzeitung. 1893. No. 23.)

2) Effront et Sorel, Accoutumance des ferments aux antiseptiques et influence de cette accoutumance sur leur travail chimique. (Compt. rend. T. CXIX. p. 169.)

3) l. c.

4) F. Lafar, Physiolog. Studien über Essiggärung und Schnellseigfabrikation; II. Abh.: Die Säuerungskraft von *Bact. aceti* Hansen und *Bact. Pasteurianum* in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur. (Centralbl. f. Bakteriöl. u. Parasitenk. II. 1895. p. 129.)

5) F. Lafar, Physiolog. Studien etc.; I. Abh.: Ueber einen Sproßpils, welcher kräftig Essigsäure bildet. (Centralbl. f. Bakteriöl. u. Parasitenk. Bd. XIII. 1893.)

darüber am Schlusse seiner Mitteilung Folgendes: „Die von Pasteur in seinen ‚Etudes sur le vinaigre‘ aufgestellten Behauptungen, daß *Mycoderma vini* (bezw. *cerevisiae*) den Alkohol direkt und ohne intermediäre Bildung von Essigsäure zu Kohlensäure und Wasser verbrennt, ist nicht mehr aufrecht zu erhalten. Es giebt vielmehr mindestens einen Sproßpilz genannter Art, welcher kräftig Essiggärung hervorzurufen vermag“. Aus den Angaben Lafar's über die Eigenschaft dieses Sproßpilzes geht jedoch nicht mit Sicherheit hervor, ob dieser Sproßpilz auch thatsächlich eine *Mycoderma*-art war; die in Aussicht gestellte nähere Beschreibung dieses Pilzes ist daher noch abzuwarten. Thatsache ist, daß *Saccharomyces anomalus* Hansen in Bierwürze Essigäther erzeugt, welcher der Flüssigkeit einen obstartigen Geruch verleiht, daß derselbe Pilz nach meinen eigenen Versuchen aber auch imstande ist, in alkoholhaltiger Bierwürze nicht bloß Essigäther, sondern auch Essigsäure zu bilden und den Alkohol zu Wasser und Kohlensäure zu verbrennen. Eine eingehendere Darlegung dieser Verhältnisse beabsichtige ich demnächst zu bringen.

Daß flüchtige Säuren und darunter Essigsäure sich in geringer Menge bei der alkoholischen Gärung bilden, konnte ich zu wiederholten Malen beobachten; auch von anderer Seite <sup>1)</sup> wird es als fast sicher angenommen, daß Spuren von Essigsäure als ein Produkt der Hefe entstehen können. Khondabachian <sup>2)</sup> will sogar nach der Vergärung von Most mit verschiedenen Wein- und Bierhefen 0,94 bis 1,67 g Essigsäure neben 0,27—0,28 g Ameisensäure im Liter gefunden haben; danach sollen Ameisensäure und Essigsäure je nach den obwaltenden Umständen in wechselnden Mengen auch Produkte der Gärung sein.

Im übrigen tritt Essigsäure als Nebenprodukt bei den verschiedensten Gärungserscheinungen auf. Hervorzuheben wäre in dieser Beziehung der *Bacillus ethaceticus* von Frankland und Fox <sup>3)</sup>, welcher Arabinose <sup>4)</sup>, Glykose <sup>5)</sup>, Mannit und Glycerin hauptsächlich zu Aethylalkohol und Essigsäure vergärt. Ein ähnliches Verhalten zeigt auch der Friedländer'sche *Pneumococcus*, welcher nach Brieger aus Trauben- und Rohrzucker Essigsäure, Aethylalkohol und etwas Ameisensäure bildet.

---

1) Siehe Babo-Mach, Handbuch des Weinbaues und der Kellerwirtschaft. Bd. II. 1896. p. 149.

2) Khondabachian, Sur la présence de l'acide formique dans les raisins et les vins. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. VI. 1892. p. 600; nach Koch's Jahresber. 1892. p. 75.)

3) Vergl. darüber Frankland u. Frew, The Fermentation of Calcium Glycerate by the *Bacill. ethaceticus*. (Journal of the Chem. Soc. Transactions. Vol. LIX. 1891. p. 81; nach Koch's Jahresber. 1891. p. 237.)

4) Frankland u. Mac Gregor, Fermentation of arabinose with the *B. ethaceticus*. (Journal of the Chem. Soc. Transactions. 1892. p. 737; nach Koch's Jahresber. 1892. p. 232.)

5) Frankland u. Lumsden, Decomposition of Mannitol and Dextrose by the *Bacill. ethaceticus*. (Journal of the Chem. Soc. Transactions. 1892. p. 432; nach Koch's Jahresber. 1892. p. 231.)

Wie bereits in der Einleitung bemerkt wurde, kam bei der Durchführung der nachfolgenden Versuche vor allem die Frage in Betracht: Zeigen morphologisch verschiedene Arten der Essigsäurebakterien auch in Bezug auf ihre chemische Wirksamkeit wesentliche Unterschiede? Obzwar diese Frage von vornherein mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit zu bejahen gewesen wäre, so fehlten dazu doch noch die experimentellen Beweise. Nachdem Lafar<sup>1)</sup> mit seinen Versuchen bezüglich des Temperatureinflusses auf die Säuerungskraft von *Bact. aceti* und *Bact. Pasteurianum* in dieser Richtung den Anfang gemacht hatte, sollten die folgenden Untersuchungen, auf die mehr chemische Seite dieser Frage abzielend, einen weiteren bescheidenen Beitrag hierzu liefern.

Für die folgenden Versuche wurde als Nährlösung fast durchweg Hefedekokt verwendet, nur in wenigen Fällen, wo sich dieses Nährmedium als zu wenig günstig erwies, wurde ungehopfte Bierwürze in Anwendung gebracht.

Die Bereitung des Hefedekoktes geschah in der Weise, daß 500 g Bäckerhefe (Preßhefe) zunächst durch wiederholtes Dekantieren mit Wasser gewaschen, sodann mit 5 l Wasser 1 Stunde lang gekocht wurden; nachdem der durch Verdampfen erfolgte Wasserverlust ersetzt und die Flüssigkeit etwas abgekühlt war, wurde mit zu Schaum geschlagenem Eiweiß versetzt, aufgeköcht und filtriert. Das auf diese Weise vollkommen klar erhaltene Filtrat wurde an 3 aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf je eine halbe Stunde lang sterilisiert. Die Versuche wurden in 1-Literflaschen oder in entsprechend geräumigen Kochkolben mit Baumwollverschluß vorgenommen. Um den Baumwollbausch gegen auffallende Organismen und Staub möglichst zu schützen, wurde ein kleines passendes Becherglas über den Hals der Flasche bzw. des Kolbens gestülpt. Nach dem Zusatz des jeweiligen, auf seine Oxydierbarkeit zu untersuchenden Körpers wurde neuerdings sterilisiert. Keine Versuchsflüssigkeit kam früher in Gebrauch, bevor nicht ihre vollständige Sterilität durch mehrtägiges Stehen bei 25—28° C erwiesen war. Zur Verwendung gelangte durchweg 2—3 Tage altes Bakterienmaterial, welches auf zur Hälfte mit Bierwürze versetztem gewöhnlichen Schankbier bei 34° aufgezüchtet worden war; *Bact. Pasteurianum* und *Bact. Kützingianum* H. wurden zuvor stets auf den Eintritt der Blaufärbung mit Jod geprüft.

Die Aussaat in die mit den Versuchsflüssigkeiten beschickten Gefäße geschah mittels einer kleinen Platinöse.

Sämtliche Versuche wurden bei einer Temperatur von 26—30° C vorgenommen.

Zunächst wurden in die Versuche einbezogen: *Bacterium Pasteurianum* und *Bacterium Kützingianum* Hansen.

---

1) l. c.

### 1. Einwirkung auf Methylalkohol.

Als Nährlösung dienten je 500 ccm Hefedekokt mit 10 ccm Methylalkohol für jede der beiden oben genannten Bakterienarten. Nach wenigen Tagen hatten sich in jeder Flasche die Bakterien soweit vermehrt, daß die ganze Flüssigkeit getrübt erschien. Nach Verlauf von 5 Wochen hatten sich die Bakterien zu Boden gesetzt, wodurch die Flüssigkeit wieder klar geworden war. Der Versuch wurde nach dieser Zeit unterbrochen und auf etwaige Säurebildung geprüft. Nachdem die Lösungen nach wie vor neutrale Reaktion zeigten, so hatte eine Oxydation des Methylalkohols zu Ameisensäure nicht stattgefunden. *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* verhielten sich daher dem Methylalkohol gegenüber ebenso unwirksam wie das Brown'sche *B. aceti*.

### 2. Einwirkung auf Aethylalkohol.

Als Nährlösung wurden je 500 ccm Hefedekokt mit 25 ccm Alkohol (Aethylalkohol) verwendet.

In der mit *B. Pasteurianum* infizierten Flasche zeigte sich schon am 2. Tage eine deutliche Membran, die sich an den darauffolgenden Tagen bald über die ganze Oberfläche verbreitet hatte und an Dichte zunahm. Nach Ablauf von 5 Wochen wurde die Membran mikroskopisch untersucht; dieselbe bestand vorwiegend aus zahlreichen, nur selten mit Ausbuchtungen versehenen Fäden; die übrigen Zellen waren größtenteils in lange Ketten vereinigt. Mit Jod trat jedoch keine Blaufärbung ein. Die Flüssigkeit roch stark sauer.

Behufs genauer Charakterisierung der gebildeten Säure wurde die Flüssigkeit zunächst filtriert, sodann im Wasserdampfstrom destilliert und die in dem Destillat enthaltene Säure in das Barytsalz übergeführt<sup>1)</sup>. Dies geschah in der Weise, daß dem Destillat chemisch reines Baryumcarbonat im Ueberschuß zugesetzt und die Verdrängung der Kohlensäure durch mäßiges Erwärmen beschleunigt wurde. Das überschüssige Baryumcarbonat wurde sodann abfiltriert, das Filtrat am Wasserbade eingedampft, neuerdings gelöst und der geringe, ungelöst bleibende Rückstand durch Filtration neuerdings beseitigt. Nachdem das Filtrat abermals bis zur Trockene abgedampft und ein Teil des so gewonnenen Barytsalzes bei 130° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet worden war, wurde eine gewogene Menge des Salzes im Platintiegel mit Schwefelsäure zerlegt, die Schwefelsäure vorsichtig abgeraucht, der Rückstand geglüht und als Baryumsulfat gewogen.

0,6852 g Substanz gaben 0,6255 Baryumsulfat; dasselbe entspricht 0,3677 Ba oder

in 100 Teilen

Gefunden für  $\text{Ba}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$  berechnet

Ba . . . . . 53,66 53,73

Es hatte sich also infolge der Einwirkung von *B. Pasteurianum* auf Aethylalkohol ausschließlich Essigsäure gebildet.

1) Von der Bestimmung der Säuremenge wurde abgesehen, da es hier nicht so sehr auf die Quantität der Säure, sondern auf die Beschaffenheit derselben ankam.

Ein etwas abweichendes Verhalten zeigte *B. Kützingianum* insofern, als nach 5 Tagen noch keine merkliche Entwicklung der Membran stattgefunden hatte. Da dieses Essigsäurebakterium möglicherweise in Hefedekokt gegen Alkohol empfindlicher sein konnte als *B. Pasteurianum*, so wurde ein zweiter Versuch aufgestellt, die Alkoholmenge für 500 ccm Hefedekokt aber auf 10 ccm herabgesetzt. Thatsächlich hatte sich bereits innerhalb der ersten 3 Tage eine deutliche Membran gebildet, welche später an Dichte zunahm. Nach 6-wöchentlicher Einwirkung wurde der Versuch unterbrochen und die Membran mikroskopisch untersucht; auch hier hatten sich zahlreiche Fadenformen, jedoch in weit geringerer Zahl als bei *B. Pasteurianum*, gebildet; die Blaufärbung mit Jod trat nicht mehr ein. Die gebildete Säure wurde in der gleichen Weise wie bei *B. Pasteurianum* durch die Herstellung und die Analyse des Barytsalzes bestimmt.

0,6426 g Substanz gaben 0,5846 g Baryumsulfat; dasselbe entspricht 0,3439 g Ba oder  
in 100 Teilen

	Gefunden	für $\text{Ba}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$	berechnet
Ba . . . . .	53,51		53,73

Die gebildete Säure war demnach gleichfalls Essigsäure.

### 3. Einwirkung auf Propylalkohol.

Je 500 g Hefedekokt waren mit 15 ccm Propylalkohol versetzt worden.

*Bact. Pasteurianum* entwickelte sich hier etwas langsamer als in dem mit Aethylalkohol versetzten Hefedekokt; selbst nach 5-wöchentlichem Stehen, nach welcher Zeit der Versuch unterbrochen wurde, hatte sich noch keine vollständig über die Flüssigkeitsoberfläche sich ausbreitende Membran gebildet. Bei der mikroskopischen Betrachtung fanden sich nur wenige Fadenformen, dagegen waren die Zellen fast ausschließlich in langen Ketten aneinandergereiht. Mit Jod färbte sich die Membran intensiv blau. Die Lösung roch stark sauer.

Behufs Bestimmung der gebildeten Säure wurde dieselbe im Wasserdampfstrom abdestilliert und in der oben angegebenen Weise an Baryum gebunden.

Die Analyse des bei 130° getrockneten, wasserfreien Barytsalzes ergab folgendes Resultat:

1,1294 g Substanz gaben 1,0645 g Baryumsulfat; dasselbe entspricht 0,625 g Ba oder  
in 100 Teilen

	Gefunden	für $\text{Ba}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2)_2$	berechnet
Ba . . . . .	48,42		48,41

Die durch *B. Pasteurianum* gebildete Säure war demnach Propionsäure.

*B. Kützingianum* zeigte auch in diesem Falle gegenüber *B. Pasteurianum* ein verschiedenes Verhalten, indem es gegen Propylalkohol sich gleichfalls empfindlicher erwies als letzteres. Nachdem am 5. Tage noch keine merk-

liche Entwicklung eingetreten war, wurde der Versuch in der Weise modifiziert, daß 500 ccm Hefedekokt nur 5 ccm Propylalkohol zugesetzt erhielten und neuerdings mit *B. Kützingianum* infiziert wurden. Daraufhin hatte sich in wenigen Tagen eine deutliche Membran gebildet. Nach Ablauf von 6 Wochen wurde der Versuch unterbrochen. Die Flüssigkeit war stark sauer und wurde behufs Herstellung des Barytsalzes im Wasserdampfstrom destilliert.

Die Analyse des wie oben dargestellten, bei 130° getrockneten Barytsalzes gab folgende Zahlen:

0,4710 g Substanz gaben 0,3876 g Baryumsulfat; dieses entspricht 0,228 g Ba oder

in 100 Teilen

Gefunden für  $\text{Ba}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2)_2$ , berechnet

Ba . . . . . 48,40 48,41

*B. Kützingianum* hatte demnach gleichfalls Propylalkohol in Propionsäure verwandelt.

#### 4. Einwirkung auf normalen Butylalkohol.

In diesem Versuche wurden je 200 ccm Hefedekokt mit 2 ccm normalen Butylalkohol versetzt.

48 Stunden nach erfolgter Aussaat hatte sowohl *B. Pasteurianum* als auch *B. Kützingianum* sich lebhaft vermehrt.

*B. Pasteurianum* zeigte nach 5-wöchentlichem Stehen nur mehr eine zarte Membran, während sich durch die Bakterien ein reichlicher Bodensatz gebildet und die Flüssigkeit sich geklärt hatte. Die in der Membran enthaltenen Zellen waren in langen Ketten vereinigt, Fadenformen waren nur äußerst spärlich vertreten; Blaufärbung mit Jod trat nicht ein. Die Flüssigkeit roch deutlich nach Butter-säure.

Nachdem der größte Teil der gebildeten flüchtigen Säure im Wasserdampfstrom abdestilliert worden war, wurde behufs Bestimmung der Säure das Barytsalz dargestellt, dasselbe bei 130° getrocknet und in der üblichen Weise der Gehalt an Baryum bestimmt.

0,3259 g Substanz gaben 0,2452 g Baryumsulfat; dieses entspricht 0,1441 g Ba oder

in 100 Teilen

Gefunden für  $\text{Ba}(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2)_2$ , berechnet

Ba . . . . . 44,21 44,05

Normaler Butylalkohol war demnach durch die Einwirkung von *B. Pasteurianum* zu normaler Butter-säure oxydiert worden.

Das gleiche Verhalten zeigte auch *B. Kützingianum*. Nach Ablauf derselben Zeit, innerhalb welcher sich das Bakterium kräftig entwickelt hatte, wurde die gebildete Säure abdestilliert und nach Darstellung des Barytsalzes die Bestimmung derselben vorgenommen.

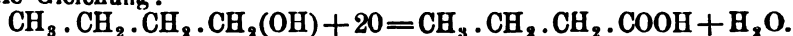
0,3447 g Substanz gaben 0,2565 g Baryumsulfat, welchem 0,1507 Ba entsprechen oder

in 100 Teilen

Gefunden für  $\text{Ba}(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2)_2$ , berechnet

Ba . . . . . 43,72 44,05

Demzufolge hatte auch *B. Kützingianum* normale Buttersäure aus normalem Butylalkohol gebildet. Diese Tatsache ist insofern von einigem Interesse, als eine derartige Wirkung der Essigsäurebakterien bisher noch nicht beobachtet worden war. Der hierbei stattfindende Gärungsprozeß läßt sich ausdrücken durch die Gleichung:



#### 5. Einwirkung auf Isopropylalkohol.

Zunächst wurden auf je 500 ccm Hefedekokt mit 5 ccm Isopropylalkohol Aussaaten von *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* vorgenommen. Nachdem weder in dem einen noch in dem anderen Falle selbst nach 8 Wochen langem Stehen eine Vermehrung der Bakterien zu beobachten war, wurde der Versuch wiederholt, anstatt Hefedekokt aber ungehopfte Bierwürze mit 7 Proz. Extrakt verwendet. Zu diesem Zwecke wurden je 300 ccm Bierwürze mit 3 ccm Isopropylalkohol versetzt und mit den in Frage kommenden Bakterien infiziert. Auch hier war das gleiche Resultat, die Kolben blieben nach wie vor steril, selbst nach 8-wöchentlichem Stehen hatte sich keine Vegetation gezeigt.

Danach haben sowohl *B. Pasteurianum* als auch *B. Kützingianum* nicht nur keine Wirkung auf Isopropylalkohol, sondern sie werden durch denselben auch in ihrem Wachstum gehindert.

#### 6. Einwirkung auf Isobutylalkohol.

Verwendet wurden 2 Flaschen mit je 500 ccm Hefedekokt und 5 ccm Isobutylalkohol.

In der einen mit *B. Pasteurianum* infizierten Kulturflüssigkeit zeigte sich nach Verlauf von 4 Wochen eine leichte Trübung, während in der anderen Flasche, welche mit *B. Kützingianum* beschickt worden war, gar keine Veränderung nach derselben Zeit eingetreten war. Da Hefedekokt unter diesen Verhältnissen möglicherweise ein zu wenig günstiger Nährboden für die Entwicklung der beiden Bakterienarten war, so wurde ein zweiter Versuch mit Bierwürze angestellt; die Zusammensetzung derselben war die nämliche wie bei dem Versuch mit Isopropylalkohol. Die Aussaaten erfolgten auf je 300 ccm Würze, welche einen Zusatz von je 3 ccm Isobutylalkohol erhalten hatten. Nach 8 Tagen waren bereits beide Bakterienarten in den Würzekolben an der Flüssigkeitsoberfläche in Gestalt einer deutlichen Membran zur Entwicklung gelangt. Nach Ablauf von 6 Wochen wurden die Kolben geöffnet; um zunächst eine etwaige Säurezunahme konstatieren zu können, wurde der Säuregehalt durch Titration mit Natronlauge (1 ccm = 0,008 g Essigsäure) ermittelt.

Der ursprüngliche Säuregehalt der Würze betrug in 100 ccm 0,024 g Säure (als Essigsäure berechnet); nach der Einwirkung von *B. Pasteurianum* erforderten 10 ccm Würze 5,8 ccm Natronlauge, demnach betrug die Säurezunahme für 100 ccm Würze 0,44 g (als Essigsäure berechnet).

Dasselbe geschah für *B. Kützingianum*. 10 ccm Würze erfor-

derten in diesem Falle 6,2 ccm Natronlauge, welche einer Säurezunahme von 0,472 g in 100 ccm entsprechen. Die Menge der gebildeten Säure war daher in beiden Kolben nahezu gleich und es erübrigte nun noch, dieselbe näher zu bestimmen.

Zu diesem Behufe wurde wie bei den vorhergehenden Versuchen die Säure durch Destillation im Wasserdampfstrom von den nichtflüchtigen Bestandteilen getrennt und das Destillat zur Herstellung der Barytsalze verwendet; letztere wurden in derselben Weise wie früher bereitet.

Nach der Analyse der bei 130° getrockneten Salze gaben  
bei *B. Pasteurianum*

0,5854 g Substanz, 0,4320 g Baryumsulfat, welche 0,2541 Ba entsprechen oder

	in 100 Teilen	Isobuttersäure
	Gefunden	für $\text{Ba}(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2)_2$ berechnet
Ba . . . . .	43,46	44,05

bei *B. Kützingianum*

gaben 0,4790 g Substanz 0,3544 Baryumsulfat, welchem 0,2085 g Ba entsprechen oder

	in 100 Teilen	Isobuttersäure
	Gefunden	für $\text{Ba}(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2)_2$ berechnet
Ba . . . . .	43,52	44,05.

Obwohl die gefundenen Werte für Ba bei beiden Bestimmungen eine größere Abweichung von der theoretischen Menge zeigen, so lassen dieselben doch unzweifelhaft auf die Identität der gebildeten Säure mit Isobuttersäure schließen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Erreger der Reifung bei dem Emmenthalerkäse.

### Zweite Mitteilung

von

Dr. Ed. v. Freudenreich,

Vorsteher des bakt. Laboratoriums der Molkereischule Rütli bei Bern.

In einer Bd. III. p. 231 dieser Zeitschrift erschienenen vorläufigen Mitteilung habe ich über einige Versuche berichtet, aus denen sich ergibt, daß die Milchsäurefermente befähigt sind, das Kasein in lösliche Produkte überzuführen, eine Thatsache, die ihre Beteiligung an der Reifung der Hartkäse mit Rücksicht auf ihr Ueberhandnehmen während der Reifungsperiode wohl als ziemlich sicher erscheinen läßt. Da jedoch dieses Löslichwerden des Kaseins jedenfalls nur einen Teil der Reifung ausmacht und letztere auch von der Bildung wirklicher Zersetzungsprodukte begleitet sein muß, so behielt ich mir vor, speziell diesen Punkt näher zu untersuchen. Die diesbezüglichen Versuche, über die später ausführlicher berichtet werden



wird, sind noch im Gange, jedoch bereits so weit gediehen, daß ich schon jetzt das Resultat eines derselben mitteilen kann, ein Resultat, welches besondere Beachtung verdient, weil es den Nachweis leistet, daß die Milchsäurefermente das Kasein auch wirklich zersetzen.

Der Versuch wurde in ähnlicher Weise wie die früheren gestaltet, d. h. ein großer Kolben Magermilch mit Kreidezusatz — zum Zwecke der Neutralisierung der gebildeten Säure — wurde mit 2 Milchsäurefermenten geimpft und bei 37° bebrütet. Die gewählten Milchsäurefermente waren mein *Bacillus*  $\alpha$ , aus Käse gezüchtet, und ein ebenfalls aus reifendem Käse isolierter, ziemlich dicker *Bacillus*, der ebenfalls Milchsäure bildet. Wie *Bac.*  $\alpha$  wächst er nicht in gewöhnlicher Gelatine oder Bouillon, dagegen gut auf Zuckeragar. Nach 4 Wochen wurde die Milch nun näher untersucht. Sie enthielt nur die eingeimpften Bacillen, zumeist *Bac.*  $\alpha$  und war noch leicht sauer. Sie wurde nun durch ein Chamberland'sches Filter filtriert und im Filtrat zunächst der Stickstoffgehalt ermittelt. Derselbe betrug 0,156 Proz. (= 1,0244 Albuminate), während die frische, filtrierte Magermilch nur ca. 0,033 Proz. N enthält, wie aus mehreren Kontrollversuchen sich ergeben hat. Dieses beweist zunächst, daß wiederum ein Teil der Eiweißsubstanz der Milch filtrierbar geworden war, d. h. in lösliche Produkte übergeführt worden war.

In 100 ccm des Filtrates wurden nun, nach der Methode von Stutzer (vgl. auch Bondzynski, Landw. Jahrbuch d. Schweiz, Bd. VIII. p. 189), die Eiweißstoffe mit Phosphorwolframsäure ausgefällt und dann in diesem von Eiweißkörpern befreiten Filtrate der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt; sollte ein solcher überhaupt vorhanden sein, so mußte er als Amidstickstoff angesehen werden, d. h. als Stickstoff gebildeter Zersetzungsprodukte der Eiweißstoffe der Milch. Die Analyse ergab nun 0,0966 Proz. Stickstoff; demnach repräsentiert der größere Teil des Gesamtstickstoffs Amidstickstoff<sup>1)</sup>.

Mit einer zweiten Portion der filtrierten Kultur wurde in gleicher Weise verfahren, jedoch auch der Stickstoffgehalt des Filtrerrückstandes ermittelt, d. h. der Stickstoff der noch vorhandenen Eiweißkörper. Ich lasse die gefundenen Zahlen hier folgen:

Filtrerrückstand	0,0389 Proz. N
Von Eiweißstoffen befreites Filtrat	0,1053 „ „ (Amidstickstoff)
	0,1442 Proz. N

In diesem Falle bemerkt man eine kleine Differenz zwischen der Gesamtzahl 0,1442 Proz. N und der in der ersten Analyse gefundenen Zahl 0,156 Proz. N (Stickstoff der filtrierten Kultur). Dieselbe rührt wohl größtenteils davon her, daß ein kleiner Teil des Filtrerrückstandes verloren ging.

Die erhaltenen Resultate sind um so bezeichnender, wenn man sie mit den von Bondzynski für Emmenthalerkäse gefundenen Werten vergleicht. Derselbe fand z. B. für den gesamten Stickstoff der löslichen Bestandteile in zwei gut gereiften Käsen die Zahlen

1) Von dem jedenfalls nur in geringen Mengen gebildeten Ammoniak wurde in diesem ersten Versuche abgesehen.

1,44 und 1,51 Proz. Der Stickstoff der Eiweißzersetzungsprodukte der gleichen Käse betrug 0,93 und 0,82 Proz. Es sind dies Zahlen, die ca. 9—10mal höher sind als die meinigen; da aber dieselben auf Käse berechnet sind, die meinigen auf Milch, und man auf 1 kg Käse ungefähr 11 kg Milch rechnet, so ist die Uebereinstimmung frappant. Die von mir erhaltenen, etwas höheren Werte mögen ihre Erklärung in der angewandten Bruttemperatur finden, welche jedenfalls fördernd auf die Thätigkeit der eingepflichten Bakterien gewirkt hat.

Wenn nun einerseits im reifenden Käse sozusagen nur Milchsäurebildner gefunden werden, andere Bakterien, wie *Tyrothrix*-Bacillen u. s. w., dagegen nur in kaum nennenswerter Anzahl, und andererseits der Nachweis geleistet wird, daß diese Klasse von Bakterien das Kasein lösen und zersetzen, so kann man wohl nicht mehr bezweifeln, daß gerade diese Milchsäurefermente die Erreger der Reifung bei den Hartkäsen sind. Bei den Weichkäsen dagegen nehmen, wie ich früher gezeigt habe, *Oidium lactis* und wohl auch Hefepilze daran teil.

---

*Nachdruck verboten.*

## Der Salpeterpilz.

Von

A. Stutzer und R. Hartleb.

(Fortsetzung.)

6) Wieviel Nitrat vermag der Salpeterbildner aus Nitrit zu erzeugen? Vorstehende Frage haben wir wiederholt durch experimentelle Versuche zu beantworten gesucht. Wir benutzten hierbei größere Mengen (mindestens je 1 Liter) einer mit den nötigen Mineralsalzen versehenen, durch Soda schwach alkalisch gemachten Nährlösung. Diese wurde mit Nitratbakterien geimpft und abgemessene Mengen einer Natrium-Nitritlösung mit bekanntem Gehalt an Nitrit-N von Zeit zu Zeit, nach jeweiligem Verschwinden des Nitrits hinzugesetzt. Durch die Flüssigkeit, welche in einem auf 30° erwärmten Thermostaten sich befand, ist wochenlang keimfreie Luft in langsamen Strome hindurch geleitet. Bei Abschluß der Versuche wurde der Gehalt an Nitrat-N ermittelt. Hierbei ergab sich, daß 89—93 Proz. des gegebenen Nitrit-N's in Nitrat-N umgewandelt war. Der Rest bestand aus organischen N-Verbindungen, welche die Organismen vermutlich zum Aufbau ihres Körpers verwendet hatten.

Ganz genau übereinstimmende Zahlen haben wir bei den vergleichenden Versuchen nicht gefunden und ist dies leicht erklärlich, weil das Wachstum der Bakterien bei den zu verschiedenen Zeiten ausgeführten Versuchen ein nicht völlig gleiches ist, sie werden bald mehr, bald weniger N-haltiges Material für ihre Körpersubstanz in Anspruch nehmen.

7) Die Rückbildung des Salpeter-zerstörenden Or-

ganismus in einen Salpeter-bildenden. Im Abschnitte III 1 Versuch 8 erwähnten wir, in welcher Weise der Salpeterbildner zu einem Salpeterzerstörer werden kann. Wir legten uns nun die Frage vor: Kann die physiologische Wirkung des Salpeter-Zerstörers so sehr verändert werden, daß er wieder befähigt ist, Nitrite in Nitrate zu verwandeln?

Die Nährlösung enthielt im Liter 1 g Kaliumphosphat, 1 g Chlornatrium, 0,5 g Magnesiumsulfat, 0,1 g. Chlorcalcium, 2,5 g Natriumkarbonat, 2 g Natriumnitrit. Hiervon wurde  $\frac{1}{4}$  Liter für jeden Versuch verwendet und beständig ein Luftstrom durch die Flüssigkeit hindurch geleitet, welche Luft zuvor keimfreie Watte passieren mußte, um sie von den Bakterien der Luft zu befreien.

Zur Impfung wurde die Kulturflüssigkeit des Versuches 8 (s. oben) benutzt, nachdem die darin enthaltenen Mikroben durch wiederholte Zugaben von Glycerin bezw. Nitrit sich stark vermehrt hatten und eine energische salpeterzerstörende Wirkung ausübten.

Erst nach Verlauf von ungefähr 6 Wochen war die Umwandlung des Nitrits zu Nitrat vollendet. Die Rückbildung erfolgte somit sehr langsam.

8) Der Verlauf der Salpeterbildung bei Gegenwart verschiedener Salze und anderer chemischer Verbindungen. Nach den Ergebnissen früherer Versuche mußten wir annehmen, daß die Entstehung von Salpeter aus Nitriten durch Säuren ungünstig, durch geringe Mengen von Karbonaten der Alkalien günstig beeinflußt wird. Für die landwirtschaftliche Praxis kann es von Interesse sein, das Verhalten sehr verschiedener chemischer Verbindungen gegen die Thätigkeit der Nitrifikations-Bakterien kennen zu lernen und geben wir nachstehend Mitteilung von einigen diesbezüglichen Versuchen, welche auf die Beeinflussung der Umwandlung von Nitrit zu Nitrat sich beziehen.

Wir gingen von einer sterilisierten Nährsalzlösung aus, welche im Liter 1 g phosphorsaures Kali, 1 g Chlornatrium, 0,5 g Magnesiumsulfat, 0,1 g Chlorcalcium enthielt und durch Zugabe von wenig Natriumkarbonat vollkommen neutral gemacht war. Diese Flüssigkeit wurde mit 10 ccm einer 2-proz. Lösung von Natriumnitrit versetzt und mit Bakterien des Nitritbildners geimpft, welche einer guten Strichkultur von Nitritagar entnommen waren. Um die Nitrifikation zu beschleunigen, ist beständig ein Luftstrom durch die auf 30° im Thermostaten erwärmte Flüssigkeit hindurch geleitet. Nachdem wiederholt die neu hinzugegebenen Mengen von Nitrit in Nitrat verwandelt waren, und die Bakterien gut „arbeiteten“, wurden je 20 ccm dieser Flüssigkeit in kleine sterilisierte Erlenmeyerkolben gegossen und mit je 10 ccm der nachstehend angegebenen Salzlösungen sowie mit 2 ccm einer 2-proz. Natrium-Nitritlösung (selbstverständlich in sterilisiertem Zustande) vereinigt. Bei Einleitung aller Versuche waren sämtliche Bedingungen gleich, mit Ausnahme des zu prüfenden Faktors (Salz, bezw. andere chemische Verbindungen). Versuchsdauer 14 Tage. Temperatur 30° C. Die Prüfung auf Nitrit geschah täglich. War das Nitrit vollständig in Nitrat verwandelt, so wurden je 2 ccm einer sterilisierten Lösung von Natrium-Nitrit neu hinzugefügt.

	Gehalt der Versuchs- flüssigkeit an dem zu prüfenden Bestandteil Proz.	Die Nitritreaktion verschwand inner- halb 14 Tage
<b>1. Karbonate.</b>		
Kaliumkarbonat . . . . .	0,25	6 mal
" . . . . .	0,50	6 "
" . . . . .	1,00	5 "
Natriumkarbonat . . . . .	0,25	5 "
" . . . . .	0,50	5 "
" . . . . .	1,00	3 "
Ammoniumkarbonat . . . . .	0,25	0 "
" . . . . .	0,50	0 "
Calciumkarbonat . . . . .	*)	5 "
Magnesiumkarbonat . . . . .	*)	5 "
<b>2. Oxyde.</b>		
Aluminiumoxyd . . . . .	*)	5 "
Manganoxyd . . . . .	*)	3 "
<b>3. Chloride.</b>		
Chlornatrium . . . . .	0,25	6 "
" . . . . .	0,50	6 "
Chlorkalium . . . . .	0,25	6 "
" . . . . .	0,50	6 "
Chlorcalcium . . . . .	0,25	0 "
" . . . . .	0,50	0 "
Chlormagnesium . . . . .	0,25	6 "
" . . . . .	0,50	5 "
Chlorammonium . . . . .	0,25	0 "
" . . . . .	0,25	0 "
<b>4. Sulfate.</b>		
Natriumsulfat . . . . .	0,25	6 "
" . . . . .	0,50	5 "
Kaliumsulfat . . . . .	0,25	6 "
" . . . . .	0,50	5 "
Calciumsulfat . . . . .	**)	4 "
Magnesiumsulfat . . . . .	0,25	6 "
" . . . . .	0,50	5 "
Ammoniumsulfat . . . . .	0,25	1 "
" . . . . .	0,50	0 "
schwefelsaures Eisenoxydul . . . . .	0,10	6 "
" . . . . .	0,25	5 "
" Eisenoxyd . . . . .	0,10	6 "
" . . . . .	0,25	5 "
<b>5. Sulfite.</b>		
Eisensulfid . . . . .	**)	0 "
<b>6. Kainit . . . . .</b>		
	0,25	5 "
" . . . . .	0,50	6 "
<b>7. Humussäure . . . . .</b>		
	***)	3 "
<b>8. Schwefelkohlenstoff . . . . .</b>		
	†)	0 "
<b>9. Blinde Versuche ohne weitere Zusätze . . . . .</b>		
		6 "

\*) Zu 22 ccm der Kulturflüssigkeit wurde 1 g Magnesiumkarbonat, bzw. 1 g präcipitierter kohlensaurer Kalk in sterilisiertem Zustande gegeben, desgl. von Aluminium- und Manganoxyd.

\*\*) 1 g.

\*\*\*) Eine Abkochung von Torfmoos.

†) Einige Tropfen.

Die Karbonate, Chloride und Sulfate haben günstig gewirkt. Auffällig ist die schädliche Wirkung von Chlorcalcium. Das Eisenoxydul hat vermutlich aus dem Grunde nicht nachteilig gewirkt, weil bei den Versuchen, welche in Erlenmeyerkolben ausgeführt sind, die mit Wattestopfen geschlossen waren, ein Zutritt von Luft und somit eine hinreichende Oxydation des Oxyduls stattfinden konnte.

Daß die Nitratbildung bei Gegenwart der Ammoniaksalze unterbleibt, kann nicht überraschen, indem diese zur Nitritbildung verwendet wurden und die Erzeugung von Salpeter erst beginnt, nachdem sämtliche für die Organismen erreichbaren Ammoniaksalze in Nitrit übergeführt sind.

Weitere Untersuchungen betrafen das Verhalten verschiedener Sorten von Mergel- und Kalksteinen, welche aus den verschiedensten Gegenden Deutschlands herstammten. Sofern diese Materialien nicht völlig trocken waren, wurden sie lufttrocken gemacht, durch ein Sieb von 0,2 mm Maschenweite abgeseibt und das feine Mehl zu den Versuchen benutzt. Zu je 32 ccm der oben angegebenen Kulturflüssigkeit ist stets 0,10 g CaO in Form von Kalksteinen oder Mergel hinzugesetzt, bezw. bei dolomitischen Gesteinen = 0,10 g eines Gemenges von CaO + MgO.

Bei keinem Versuche war ein Unterschied in der Wirkung dieser kalkhaltigen Materialien zu bemerken.

Die Umwandlung des Nitrits in Nitrat erfolgte unter den gewählten Versuchsbedingungen bei Gegenwart der verschiedenartigsten Kalk- und Mergelsorten mit gleicher Schnelligkeit. Wir werden später zu prüfen haben, ob nicht die Einleitung der Nitrifikation, also die Erzeugung von Nitrit aus den vorhandenen Ammoniaksalzen, oder aus organischen N-haltigen Verbindungen, durch verschiedene Kalk- und Mergelsorten ungleich beeinflusst wird, da die bisherigen Ermittlungen lediglich die Verwandlung des Nitrits in Nitrat betrafen.

---

## Zusammenfassende Uebersichten.

*Nachdruck verboten.*

### Die Reinhefe in der Weinbereitung.

Ein historischer Ueberblick.

Von

Dr. J. Behrens

in

Karlsruhe.

Im Jahre 1870 stellte Rees in einer grundlegenden Arbeit<sup>1)</sup> die Gattung *Saccharomyces* für die Fermente der alkoholischen

<sup>1)</sup> M. Rees, Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. Leipzig 1870.

Gärung auf und unterschied in dieser Gattung zuerst eine Anzahl von Arten, von denen mehrere im Most und Wein gefunden waren. Die Nutzenwendung dieser rein wissenschaftlichen Untersuchungen auf die Praxis lag schon damals nahe, und wir finden sie im Anschlusse an ein Referat über die Arbeit von Rees ausgesprochen von Bersch<sup>1)</sup> mit folgenden Worten: „Diese hier in kurzen Zügen angedeuteten Untersuchungen und Entdeckungen sind auf den ersten Blick schon von höchster Wichtigkeit, sowohl für die gesamte Gärungschemie, als für die Weinbereitung insbesondere. Niemand wird bestreiten wollen, daß die Lebensbedingungen verschiedener Organismen verschiedene seien, daß sie Stoffe in verschiedener Menge verbrauchen, verschiedene Mengen wieder ausgeben, mit einem Worte, daß es für unseren Fall durchaus nicht gleichgiltig für die Qualität des zukünftigen Weines ist, ob derselbe durch die eine oder andere Gärungspflanze vergärt. — Der Botaniker hat seine Aufgabe, wie es scheint, mit großer Vollkommenheit gelöst, indem er uns die Existenz verschiedener Gärungspflanzen nachwies. Jetzt ist es die Pflicht der Gärungschemiker, die Frage in die Hand zu nehmen und sich die Aufgabe so zu stellen: Welche Verschiedenheiten zeigt ein und derselbe Most, wenn er unter sonst gleichen Verhältnissen durch die eine oder andere Hefepflanze allein oder durch ein Gemenge derselben vergärt? . . . Wie schon früher erwähnt, scheint mir in der Entdeckung der verschiedenen Arten von Gärungspflanzen der Schlüssel zur Erklärung manches dunklen Punktes in der Geschichte des Gärungsvorganges zu liegen. . .“ Damit ist der Grundgedanke, welcher der Einführung der reinen Hefen in die Gärungstechnik zu Grunde liegt, zum ersten Male mit großer Klarheit ausgesprochen, und es ist von großem Interesse, daß gerade die Weininteressenten zuerst auf die Wichtigkeit der heutzutage ja längst überholten Rees'schen Untersuchungen aufmerksam wurden. Rees selbst hat im Jahre 1871 auf die praktische Seite seiner Forschungen, auf die er in dem bereits citierten Werke nicht eingegangen ist, aufmerksam gemacht<sup>2)</sup>. Er schließt diesen Aufsatz mit den Worten (p. 156): „Aus diesen Erwägungen ergibt sich für die angewandte Gärungsphysiologie eine wichtige Aufgabe: Man kultiviere, soweit dies angeht, jede einzelne *Saccharomyces*art für sich allein in einer oder mehreren Normalgärflüssigkeiten: gärungsfähigen Zuckerlösungen, bestimmten, gleichartigen Weinsorten u. s. f. und stelle für jede dieser Fermentpilzarten das Verhältniß von Alkohol, Kohlensäure und den für die Weingärung so wichtigen Nebenprodukten fest. Vermöchte man so, ohne Eingehen auf das Wesen des Gärungsprozesses den Gesamtgäreffekt einer Weinhefe auf die Leistungen einzelner Gärungspilzspecies zurückzuführen, so würde das Verständnis des Weingärungsprozesses für die Praxis wesentlich gefördert. Dann wäre es auch keineswegs unmöglich, Mittel zu finden, um im Interesse der Gärungsleitung die Entwicklung des einen Fermentpilzes aus seinen vorhandenen Keimen

1) Bersch, Ueber die Gärung. (Die Weinlaube. Jahrg. III. 1871. No. 14 u. 15. p. 230.)

2) M. Rees, Ueber die Alkoholgärungspilze der Weinhefe. (Annalen der Oenologie. Bd II. 1872. p. 145 ff.)

zu fördern, die des anderen zu hemmen. — Nach dieser Richtung eröffnen vielleicht die mitgeteilten botanischen Resultate meiner Untersuchungen der Praxis eine bestimmte Aussicht.“ — Man sieht, Rees dachte, da eine wirkliche Reinkultur der Hefen seinerzeit unmöglich erschien, jedenfalls unsicher war, an das, was Delbrück vor einigen Jahren als „natürliche“ Hefereinzucht im Gegensatz zur „künstlichen“ Hansen'schen Einzellkultur bezeichnete und vorschlug.

Wenn auch vielleicht nicht immer auf Grund eines so klaren Gedankenganges, wie wir ihn bei Bersch und Rees treffen, so finden sich doch bei Verfolgung der Kongreßverhandlungen der Wein- und Obstproduzenten jener Zeit und beim Durchblättern der Weinfachschriften zahlreiche Beweise, welche Wichtigkeit man der Unterscheidung verschiedener Hefearten durch Rees in diesen Kreisen beilegte. Mit großer Klarheit äußerte sich wieder Neubauer auf der 16. Sektionsversammlung der Wein- und Obstproduzenten des südwestlichen Deutschlands in Trier am 29. September 1874<sup>1)</sup>. Neubauer's Vortrag behandelt die Frage, welche Bedeutung die neueren Arbeiten über Gärung, speziell die von Rees und Brefeld, auf welche wir später zurückzukommen haben werden, für die Praxis haben, und äußert sich in folgender Weise über die uns speziell interessierende Frage: „Gehen wir auf den Vorschlag Brefeld's zurück, die Hefe zu kultivieren, so meine ich, müßte es sich hier darum handeln, bestimmte Hefespecies zu züchten. Ich kann den Gedanken nicht abweisen, daß die verschiedenen Hefespecies bei der Gärung auch verschiedene Produkte liefern müssen, und es ist nicht unmöglich, daß jene landesübliche Bezeichnung wie „das ist Rüdesheimer Gär u. s. w.“ in gewissem Grade auf die verschiedene Wirksamkeit verschiedener Hefespecies zurückzuführen seien.“ Zur Entscheidung dieses Punktes verlangt Neubauer die thätige Mitwirkung der Herren von der Praxis, welcher Ansicht sich Goethe und Blankenhorn anschließen. Blankenhorn lud die Herren, welche sich dafür interessierten, zu einer Sondersitzung ein, in der ein gemeinsamer Arbeitsplan festgestellt werden sollte. Diese Sitzung hat auch stattgefunden. „Der Arbeitsplan wird aber vor der Hand in praxi nicht durchzuführen sein“, heißt es im Berichte weiter. Daran dürfte unter anderem auch die damals noch vorhandene Unmöglichkeit die Schuld tragen, der Praxis die notwendigen reinen Hefen zu liefern.

Die Aufgabe, wirkliche Reinkulturen der Hefe herzustellen, löste bekanntlich erst Pasteur, wenn auch seine Methoden höchst unvollkommen und unsicher waren, und wir finden denn auch sogleich in seinem epochemachenden Werke, mit welchem er die Reinhefe in die Praxis der Brauerei einzuführen versucht, eine Stelle, wo er auf die Wichtigkeit und Anwendbarkeit der dort vorgetragenen Prinzipien für die Weinbereitung aufmerksam macht. „J'ai cultivé cette levûre (eine Hefe vom Typus *Saccharomyces ellipsoideus*) sur une

1) Bericht über die Verhandlungen der Sektion für Weinbau auf der 16. Sektionsversammlung des südwestlichen Deutschlands in Trier vom 28.—30. Sept. 1874. Von G. David. (Annalen der Oenologie. Bd. V. 1876. p. 162.)

assez grande échelle dans le moût de bière. Elle a fourni une bière particulière, vineuse, un véritable vin d'orge. C'est une preuve, pour le dire en passant, que le vin ordinaire, son goût, ses qualités, dépendent certainement, pour une grande part, de la nature spécifique des levûres qui se développent pendant la fermentation de la vendange. On doit penser que, si l'on soumettait un même moût de raisin à l'action de levûres distinctes, on en retirerait des vins de diverses natures. Au point de vue des applications pratiques, des études nouvelles devraient être entreprises dans cette direction<sup>1)</sup>.

Es bedurfte indes erst der Einführung der erstarrenden Nährböden und ihrer ingeniösen Anwendung zur Darstellung von Hefe-reinkulturen, welch' letztere wir Hansen verdanken, um diese richtigen Gesichtspunkte, die Bersch, Neubauer und zum Teil auch Pasteur, mehr ahnend als auf thatsächliche Beweise gestützt, gelegentlich geäußert haben, in die Praxis umzusetzen. Nachdem Hansen einmal die Reinhefe in die Bierbrauerei eingeführt hatte, war ihre Einführung in die Weinbereitung eigentlich nur eine Frage der Zeit. Zuerst geschah diese in Frankreich. Indem ich bezüglich dieses Punktes auf die ausführliche Darstellung Wortmann's<sup>2)</sup> verweise, wende ich mich der Geschichte unserer Frage in den deutschen Weinbaugebieten zu.

In Deutschland wurde die Sache zuerst energischer berührt auf dem IX. deutschen Weinbaukongreß in Rüdesheim a/Rh. im Jahre 1886<sup>3)</sup>. Dort hielt in der zweiten Kongreßsitzung am 25. September Müller-Thurgau einen Vortrag über die Frage: „In welcher Weise läßt sich die Weingärung günstig beeinflussen?“<sup>4)</sup>. Der um die Interessen des Weinbaues hochverdiente Forscher bespricht zunächst einige Umstände, welche die Glycerinproduktion der Hefe beeinflussen, und geht dann über auf jene Faktoren, welche die Gärung beeinflussen. Er unterscheidet da solche, welche schon durch die Beschaffenheit des Mostes bedingt sind, und solche, mittels welcher wir von außen auf die Gärung einzuwirken vermögen. Er legt in seinem Vortrage das Hauptgewicht auf die letzteren, während er die ersteren nur kurz erwähnt. Auch unter den äußeren Faktoren berücksichtigt Müller-Thurgau als den wesentlichsten ganz vorzüglich die Regulierung der Temperatur des Gärkellers, gegen deren Einfluß alle anderen Mittel, insbesondere auch der Hefezusatz, in ihrer Bedeutung ganz wesentlich zurücktreten<sup>5)</sup>. Den Vorschlag, dem Traubenmost eine gewisse Menge kultivierter Hefe zuzusetzen, wie man im Brauerei- und Brennereibetrieb die Maische mit gezüchteter Hefe stelle, weist er ab, weil das beim Most unnötig sei; derselbe enthalte ja von vorn-

1) Pasteur, Etudes sur la bière. Paris 1876. p. 224.

2) Wortmann, Untersuchungen über reine Hefen. I. Teil. (Thiel's landw. Jahrbücher. Bd. XXI 1892, p. 901—905.)

3) Einer später zu besprechenden Abhandlung von Schnell entnehme ich, daß im gleichen Jahre auf der 5. Versammlung der freien Vereinigung bayerischer Vertreter der angewandten Chemie List sich in ähnlichem Sinne äußerte wie Neubauer 1874.

4) Bericht über die Verhandlungen des IX. deutschen Weinbaukongresses etc. Erstattet von H. W. Dahlen. Mainz 1887. p. 66 ff.

5) l. c. p. 73.



herein Hefe, vergäre also spontan, während Bierwürze ohne Hefezusatz durch andere Pilze in ungünstiger Weise zersetzt werden würde. „Die neuerdings gemachten Entdeckungen, daß in dem bisher bei der Bierbrauerei verwendeten Hefegut mehrere, äußerlich gleich aussehende und doch verschiedene Gärung bewirkende Hefesorten sich vorfinden, sowie daß durch Zusatz der einen oder anderen Sorte Biere von verschiedener Beschaffenheit gewonnen werden können, dürfte uns schon eher den Gedanken nahe legen, ob man nicht einen Gewinn davon haben könnte, wenn man eine bestimmte Weinhefesorte dem Traubenmost zusetzte. Abgesehen davon, daß uns aber solche verschiedene Sorten der eigentlichen Weinhefe nicht bekannt sind, daß ferner ein solches Vorgehen mit großer praktischer Schwierigkeit verknüpft wäre, steht einem solchen Vorschlage die Erfahrung gegenüber, daß man auf dem bisherigen, gewöhnlichen Wege eine vollständige günstige Gärung erzielen kann, vorausgesetzt, daß die Gärungsleitung eine rationelle ist“<sup>1)</sup>. Müller-Thurgau erwartet also von der Reinhefe keinen Vorteil für die Praxis der Weinbereitung.

Demgegenüber legte in der an den Vortrag sich anschließenden Diskussion Schmitt, der Direktor der Lebensmittel-Untersuchungsanstalt in Wiesbaden, auf „die Verbesserung und Vermehrung der Hefe“, und zwar durch die Hefereinkultur, das Hauptgewicht<sup>2)</sup>. Er weist auf die großen Erfolge der reinen Hefen in der Brauereitechnik hin, erkennt richtig, daß die Anwendung der Reinhefe beim Wein allerdings nie in sterilisiertem Most erfolgen dürfe, und fährt dann (p. 79) fort: „Wird man auch einen vortrefflich geratenen Steinberger durch Anwendung rein kultivierter Steinberger Hefe nicht aus dem Traubensaft eines jeden rheinhessischen oder pfälzer Weinberges erzeugen können, so bin ich gleichwohl der Ansicht, daß Geruch und Geschmack durch reingezüchtete Hefe ein viel reinerer und vielleicht auch dem des Steinbergers nicht unähnlich werden könnte.“ Auf die Anfrage, ob Müller-Thurgau Versuche mit Hefereinkultur gemacht habe, und zu welchen Resultaten er mit den verschiedenen Hefesorten gekommen sei, erwidert dieser, daß er auch diese Frage in den Kreis seiner Arbeiten gezogen habe. „Dieselben Moste ließ ich z. B. durch die gewöhnliche Weinhefe *Saccharomyces ellipsoideus* einerseits und die neben dieser im gärenden Most am häufigsten sich findende Hefe *Saccharomyces apiculatus* vergären. Ein wesentlicher Unterschied bezüglich des Gärproduktes zeigte sich nicht“<sup>3)</sup>. Im übrigen betont Müller noch einmal, daß im Gegensatz zur Bierhefe, unter der Hansen neben guten Hefen auch Krankheitserreger konstatiert hat, unter der gewöhnlichen Weinhefe bis dahin solche verschieden wirkende Sorten nicht aufgefunden seien. Müller faßt damals also die Weinhefe *Saccharomyces ellipsoideus* noch als eine systematische Einheit auf.

1) l. c. p. 71.

2) l. c. p. 78.

3) l. c. p. 81. — Der Most wurde bei diesen Versuchen verdünnt, da die zuge-spitzte Hefe ihn sonst nicht vollständig zu vergären vermag.

Erst auf dem XI. deutschen Weinbaukongreß zu Trier im Jahre 1889 kommt Müller-Thurgau wieder auf die Hefefrage zurück in einem Vortrage: Neue Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Weingärung und deren Bedeutung für die Praxis<sup>1)</sup>. Anknüpfend an die 1881 erschienenen Untersuchungen Hansens über den *Saccharomyces apiculatus* schildert er nach den Ergebnissen seiner Studien die ganz ähnliche Abstammung der Weinhefe aus dem Boden der Weinberge, von dem aus sie auf die Traubenbeeren gelangt neben einer Unzahl von anderen, teilweise höchst gefährlichen und krankheitsregenden Schimmelkeimen und Bakterien. Die Gefährlichkeit des Schimmels, insbesondere des *Penicillium glaucum*, für die Gärung, die durch ihn verzögert wird, wird, indem Müller auf eigene Versuche zurückgreift, gebührend hervorgehoben. Diese Gefahren sind jedoch leicht zu vermeiden. „Ohne Sterilisieren, nur durch zielbewußtes Verfahren bei der Lese, beim Keltern sowie bei der Gärungsleitung ist man in der Lage, Bakterien sowohl als Schimmelpilze für die Weingärung unschädlich zu machen“. Einen Zusatz von Hefe zur Sicherung der Gärung hält Müller also für unnötig. Weniger bestimmt drückt er sich im Hinblick auf den anderen Gesichtspunkt aus, ob nämlich nicht verschiedene Hefen ein verschiedenes Produkt erzeugen würden. Er hat inzwischen begonnen, die Wirksamkeit von Bier- und Brennereihefe in Most mit der der Weinhefe zu vergleichen, und findet, daß letztere den Most rascher und vielfach vollständiger vergärt. Die zugespitzte Hefe verliet dem Most, in dem sie die Gärung eingeleitet hatte, und dem nachher erst echte Weinhefe zugesetzt wurde, eine fremdartige, wenn auch nicht unangenehme Gär. Ja, wenn zugespitzte und echte Weinhefe von vornherein zusammen waren, so verlief die Gärung weniger gut als bei alleiniger Gegenwart der letzteren. Damit ist die Schädlichkeit des *Saccharomyces apiculatus*, die Hansen für die Brauerei erwiesen hatte, auch für die Weingärung dargethan<sup>2)</sup>. Bei der spontanen Weingärung überwiegt nun vielfach im Most zunächst die *Apiculatus*-Hefe; sie leitet die Gärung ein, erst später wird sie durch die eigentliche Weinhefe überwuchert und unterdrückt. Um die bei solchen Verhältnissen nach Obigem auftretenden Mißstände, besonders die Beeinträchtigung der Weinhefethätigkeit zu vermeiden, schlägt Müller-Thurgau ein Verfahren vor, auf das wir gleich näher eingehen werden: Er rät dem Praktiker, gleich große Mengen von echter Weinhefe dem stillen Most zuzusetzen, damit die zugespitzte Hefe von vornherein nicht aufzukommen vermag. Ueber die Reihhefen äußert sich Müller noch sehr vorsichtig. Sein Vortrag teilt über diese Frage nur Folgendes mit: „Ich selbst werde es mir anlegen sein lassen, in dem Bestreben, auch bei den Weinmosten eine absolut reine Gärung zu erreichen, noch weiter zu gehen. Wenn es

1) Bericht über die Verhandlungen des XI. deutschen Weinbaukongresses in Trier im September 1889. Erstattet von H. W. Dahlen. Mainz 1889. p. 80 ff.

2) Der Widerspruch dieses Resultats mit dem früher (1886. vgl. vorher) erhaltenen erklärt sich vielleicht durch zufällige Verwendung verschiedener Rassen der zugespitzten Hefe, deren Existenz schon Amthor (Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. XII. p. 558) im Jahre 1888 nachgewiesen hatte.

sich nämlich, was nicht ausgeschlossen ist, bestätigen sollte, daß einige der verschiedenen, schon jetzt erkannten Rassen der eigentlichen Weinhefe besondere Vorteile bezüglich der Beschaffenheit der zu erzielenden Weine bieten, so liegt nichts näher, als die Gärung mit hierfür besonders gezüchteten Weinheferassen einzuleiten. Diese zu erzielen und den Praktikern für die Einleitung der Gärung in den ersten Maischebottichen abzugeben, wäre sodann zunächst Sache der Weinbau-Versuchsstationen<sup>1)</sup>.

Das Verfahren, das Müller der Praxis zur Sicherung der Gärung vorschlägt, besteht darin, „daß man schon den ersten Bottich mit Maische, den man vielleicht etwas früher lesen kann, unter den angegebenen Vorsichtsmaßregeln (d. h. Schaffung günstiger Verhältnisse für das Wachstum der Weinhefe „durch hinreichendes Stehenlassen der Maische, fleißiges Unterstoßen derselben und Herbeiführung einer günstigen Temperatur“) bis zu den ersten Anzeichen der Gärung stehen läßt, aus diesem zu den nachfolgenden zerstampften Trauben sofort beim Einbringen in das Kelterhaus eine gewisse Menge, etwa 1 Proz., zusetzt und gut durcheinander arbeitet. Im weiteren Verlaufe wäre sodann jeder nachfolgende Bottich in gleicher Weise aus einem der vorhergehenden mit Hefe zu versehen“<sup>2)</sup>. Je nach der Art der Traubenverarbeitung (Claret, Rotwein etc.) soll die Methode natürlich entsprechend abgeändert werden.

Dies Verfahren ist dasselbe, das früher schon von Bersch zur Sicherung der Gärung dem Praktiker auf Grund eigener Versuche empfohlen war<sup>3)</sup>. Der Praktiker soll den Most, wie der Bierbrauer die Würze, mit Hefe stellen, indem er ca. 2 Tage vor der Lese einige ganz reife und unverletzte Trauben auswählt, zerquetscht, den Most in einem warmen Zimmer in Gärung übergehen läßt und die gärende Flüssigkeit zum Anstellen der ganzen Mostmenge verwendet, die dann sofort in Gärung kommen wird. Durch die rasche Vermehrung der Hefe werde die Entwicklung von Krankheitserregern und Schimmel hintangehalten. Die Versuche Bersch's ergaben, daß von ein und derselben Mostsorte der mit gärendem Most versetzte Teil einen besseren Wein lieferte als der spontan vergorene. Da mir Bersch's Buch unbekannt geblieben ist, so ist es mir unmöglich zu untersuchen, inwieweit sein Vorschlag anknüpft an die Aussicht, die Brefeld im Jahre 1874 über die Gärung hatte. Brefeld<sup>4)</sup> unterschied damals scharf zwischen Wachstum und Gärung der Hefe als zwei zeitlich ganz getrennten Vorgängen, von denen der erstere nur bei Zutritt der Luft, des Sauerstoffs vor sich geht, während der zweite eine bei Luftabschluß sich einstellende krankhafte Erscheinung ist. Er schlägt also vor, Wachstum und Gärung der Hefe auch in der Praxis zu trennen und zum Anstellen zunächst im Brau- und

1) l. c. p. 90.

2) l. c. p. 89.

3) Das Original (Bersch, Der Wein und sein Wesen. Bd. I. Die Entstehung des Weines. Wien 1878) war mir unzugänglich. Ich citiere nach H. W. Dahlen, Die Weinbereitung. Braunschweig 1878. p. 372 f.

4) Brefeld, Ueber Gärung. I. Untersuchungen über Alkoholgärung. (Landw. Jahrbücher. Bd. III. 1874. p. 65 ff.)

Brennereibetrieb keine abgeregorene, sondern frisch bei Luftzutritt gewachsene Hefe zu verwenden<sup>1)</sup>. „In besonderen Räumen muß man gesunde Saathefe erzeugen und mit dieser allein die Gärung bewirken“. Bei der Weingärung hält er einen solchen Zusatz allerdings anscheinend für überflüssig. Schon Neubauer hat jedoch in seinem eingangs erwähnten Vortrage<sup>2)</sup> auch für die Weinbereitung die entsprechende Folgerung aus Brefeld's Theorie gezogen.

Seinem Vortrag ließ Müller-Thurgau bald einen weiteren Aufsatz folgen, in welchem er auch die von französischer Seite, insbesondere von A. Rommier mitgetheilten Ergebnisse der Anwendung reiner Hefen in der Kellerwirtschaft bespricht<sup>3)</sup>. Die übertriebenen Behauptungen der Franzosen, nach denen es ein leichtes sei, geringen Weinen das Bouquet edler Weine zu verleihen, indem man den Most durch eine aus letzteren stammende Hefe vergären lasse, werden auf Grund gegentheiliger Ergebnisse widerlegt; selbst fremdartige Hefen, Bier- und Brennereihefen, vermögen den Charakter des Mostes nicht zu unterdrücken. Ueber die Frage nach den verschiedenen Rassen der echten Weinhefe wird nur Folgendes mitgeteilt: „Daß bei der eigentlichen Weinhefe wieder verschiedene Unterarten oder Rassen zu unterscheiden sind, ist meiner Ueberzeugung nach nicht zu bezweifeln, und bin ich z. B. im Besitze einer solchen, bei welcher der Wein nach vollendeter Gärung sich langsamer klärt als bei anderer; doch bedarf diese Frage noch eingehenderer Untersuchung. Merkbare Geschmacksunterschiede, verursacht durch verschiedene Rassen von *Saccharomyces ellipsoideus*, sind bisher von keiner Seite festgestellt worden.“

Während Müller-Thurgau früher der Annahme, es existierten verschiedene Rassen der echten Weinhefe, mindestens sehr mißtrauisch gegenüber gestanden hatte, erkennt er im Jahre 1889 dieselbe als richtig an. Eine nähere Untersuchung dieser Verhältnisse steht indessen noch aus; irgendwelche Nutzenanwendung auf die Praxis war schon deshalb nicht möglich. Nur von einer Hefe wird berichtet, daß der mit ihr vergorene Most sich äußerst schlecht klärt, eine Eigenschaft, welche sie für die Zwecke der Weinbereitung als ganz ungeeignet erscheinen läßt. Daß Geschmacksunterschiede durch verschiedene Weinheferassen verursacht werden können, wird, wenn auch nicht direkt in Abrede gestellt, doch wenigstens bezweifelt.

Erst im Jahre 1891 in einem dem Bericht über den Weinbaukongreß zu Worms einverleibten Aufsätze teilt Müller-Thurgau dann mit, daß er „eine Weinhefe von Steinberger Abkunft rein gezüchtet, sowie durch Gärversuche als bewährt befunden habe und auch für die Folge genügende Mengen von solcher zu Versuchszwecken unentgeltlich abgebe“<sup>4)</sup>. Dabei empfiehlt er jedoch auch

1) l. c. p. 100 ff.

2) l. c. p. 158.

3) Müller-Thurgau, Ueber die Vergärung des Traubenmostes durch zugesetzte Hefe. (Weinbau und Weinhandel. Bd. VII. 1889. No. 45. p. 477 f.)

4) Müller-Thurgau, Ergebnisse neuer Untersuchungen auf dem Gebiete der Weinbereitung. (Bericht über die Verhandlungen des XII. Deutschen Weinbau-Kongresses in Worms im September 1890. Erstattet von H. W. Dahlen. Mainz 1891. p. 136.)

noch immer das auf dem vorjährigen Kongresse von ihm empfohlene Angärenlassen einer Vorlese und betrachtet beide Arten des Hefezusatzes, sowohl die angegorene Maische der Vorlese mit ihrem unbekannten Gemisch Weinhefe als auch die Reinhefe, als ganz gleich wirksam. „Als Haupterfolge des Hefezusatzes bei der Vergärung des Traubenmostes, möge die Hefe in der erst- oder letztgenannten Weise beschafft worden sein, betrachtete ich von vornherein die Erzielung einer rascheren und sichereren Vergärung, ferner die Vermeidung von ungünstigen Geschmacks- und Geruchseigenschaften, sowie überhaupt das Erreichen einer reineren Gäre. Wird dieses erzielt, so werden selbstverständlich die den betreffenden Traubensorten entsprechenden Eigentümlichkeiten des Weines, wie Bouquet, Aroma, sowie auch andere für denselben charakteristische Eigenschaften deutlicher hervortreten, der Wert des Weines ist also gesteigert worden.“ Müller glaubt also nicht, daß zwischen den von verschiedenen Rassen der Weinhefe vergorenen Weinen wirklich chemisch greifbare Unterschiede bestehen, daß die Rassenverschiedenheit der Gärungserreger sich auch in der chemischen Zusammensetzung ihrer Gärungsprodukte ausdrücken. Der Charakter des Weines wird nach seiner Darstellung ausschließlich durch die Zusammensetzung des Mostes bestimmt. Insbesondere das Bouquet ist ihm ein ausschließliches Produkt der Rebe; als besonders schlagend und beweiskräftig betrachtet er diesbezüglich Versuche, bei denen Zuckerwasser, in welches Rebenblätter verschiedener Sorten (Riesling, Sylvaner, Burgunder, Muscateller) getaucht waren, mit ein und derselben Hefe vergoren wurde: In allen Fällen zeigte das Gärprodukt resp. das Destillat desselben ganz verschiedenen Geruch, das von Rieslingblättern erzielte wies ein ausgesprochenes Riesling-, das von Muscateller erzielte ein ausgesprochenes Muscateller-Bouquet auf, das mit Blättern amerikanischer Reben erhaltene Gärprodukt besaß Fuchsgeschmack, während die Destillate von Sylvaner- und Burgunderblättern überhaupt kein Bouquet besaßen.

Müller teilt ferner einige in der Praxis mit seiner Steinberger Hefe gemachte Erfahrungen mit, unter denen die bei der Bereitung von Apfel- und Beerenwein gesammelten besonders günstig lauten im Einklang mit Resultaten, welche Nathan inzwischen veröffentlicht hatte<sup>1)</sup>. Bei einem Parallelversuche mit zwei Fässern ein und desselben 1890er Mostes, deren eines der Versuchsansteller mit einer kleinen Menge Most, der durch die übersandte Reinhefe in Gärung versetzt war, gestellt hatte, wurde der mit Hefe versetzte Wein bei der Probe höher taxiert, er war freier von fremdartigem Beigeschmack als der andere, ein Unterschied, der auch im August 1891 noch nicht ausgeglichen war.

Als weitere Aufgabe bezeichnet Müller-Thurgau die Aufsuchung weiterer zur Weingärung geeigneter Rassen, sofern vielleicht ein Vorteil dadurch zu erzielen sei, daß man für Weine verschiedenen Charakters auch verschiedene Heferassen anwende. Sein Verfahren der Hefegewinnung ist die einfache Koch'sche Plattenkultur, die Hansen-

1) Gartenflora. 1891. p. 267 ff.

sche Einzellkultur wendet er nicht an. An die Praxis wird die Hefe im breiartigen Zustande abgegeben: Ein Zusatz von 20 ccm derselben genügt, um 1000 l Most genügend bald in energische Gärung zu versetzen.

Nachdem Müller-Thurgau mit Beginn des Jahres 1891 von Geisenheim als Direktor der neugegründeten Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau nach Wädensweil übergesiedelt war, bieten die Jahresberichte dieser Anstalt uns wertvolle Anhaltspunkte zur Beurteilung der Fortschritte, welche die Einführung der Reinhefe in die Weinbereitung macht. Der 2. Jahresbericht <sup>1)</sup> bringt zunächst nichts prinzipiell Neues. Allerdings werden vergleichende Versuche mit verschiedenen Rheingauer und Moselhefen erwähnt, bei denen aber die Steinberger Hefe den Sieg davon trug. Auch sind verschiedene Hefen schweizerischen Ursprungs rein gezüchtet. An die Praxis wird aber ausschließlich Steinberger Hefe zu Versuchszwecken abgegeben. Zu den schon im vorhin besprochenen Aufsatz erwähnten Versuchen kommen nur wenig neue.

Unterdessen hatte aber schon im Jahre 1892 eine ausführliche, auf ausgedehnte Versuchsreihen sich stützende Arbeit des Nachfolgers von Müller-Thurgau in Geisenheim, Wortmann's, die Frage in ein ganz neues Licht gerückt und den unwiderleglichen Beweis geliefert, nicht nur daß es äußerst zahlreiche verschiedene Weinheferassen giebt, sondern daß auch die chemische Arbeit, welche diese verschiedenen Heferassen leisten, verschieden ist <sup>2)</sup>. Diese Arbeit ist grundlegend für unsere Frage und hat den Sieg der Reinhefe auch in der Weinbereitung entschieden.

Zwar hatte schon Kosutany kurz zuvor <sup>3)</sup> nachgewiesen, daß derselbe Most, mit verschiedenen Hefen vergoren, Weine von verschiedenem Gehalt an Alkohol und Extrakt liefert, und daß die Hefe auch nicht ohne Einfluß auf den Charakter des Weines ist, insofern sie zur Bouquetbildung beiträgt. Indes war Kosutany bei seinen Untersuchungen von der irrigen Ansicht ausgegangen, daß die Heferarten direkt abhängig seien von der Traubensorte, daß jede der letzteren ihre eigentümliche spezifische Hefe besitze, und er hat weder mit Hefereinkulturen, noch mit sterilisierten Nährflüssigkeiten gearbeitet. Immerhin ist insbesondere seine Ansicht über das Zustandekommen des Bouquets ein entschiedener Fortschritt und von Wortmann im wesentlichen acceptiert.

Wortmann's Versuche erstrecken sich auf nicht weniger als 27 nach dem Hansen'schen Verfahren rein kultivierte Weinhefen vom Rhein, von der Mosel, der Nahe, der Ahr, aus Baden, der Pfalz, dem Elsaß, vom Main und aus der Krim. Alle wurden im gleichen (Rosinen-) Most kultiviert, der Gewichtsverlust der Gärfaschen täg-

1) 2. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädensweil 1891/92. Zugleich Programm für das Jahr 1893 Zürich 1893. p. 60 u. 61.

2) J. Wortmann, Untersuchungen über reine Hefen. I. Teil. (Landw. Jahrbücher Bd. XXI. 1893. p. 901 ff.)

3) T. Kosutany, Einfluß der verschiedenen Weinhefen auf den Charakter des Weines. (Die landwirtschaftl. Versuchstationen. Bd. XL. 1892. p. 217 ff.)

lich zweimal festgestellt und endlich wurden die Gärprodukte einer umfassenden chemischen Untersuchung in Bezug auf Alkohol- und Glyceringehalt unterworfen. Nur ein kleiner Teil der untersuchten Hefen, teilweise aus derselben Lage und demselben Trub stammend, hatten sich bei der Gärung gleich verhalten und dieselben Mengen von Gärprodukten geliefert, waren also zweifellos identisch. In anderen Fällen erwiesen sich aber die beiden Reinhefen, welche aus ein und demselben Trub stammten, als mehr oder minder, aber deutlich verschieden, so daß wir es bei der spontanen Gärung sicher mit dem Zusammenwirken verschiedener Weinhefassen zu thun haben, von denen je nach Zufall und der wechselnden Zusammensetzung des Mostes im einen Jahre die eine, im anderen die andere Rasse vorwiegen dürfte. Uns interessieren die konstatierten Verschiedenheiten.

Die einzelnen Hefen unterschieden sich zunächst ganz auffallend bezüglich der Zeit, die sie zur Vergärung der gegebenen Mostmenge (250 ccm mit 21,3 Proz. Zucker) beanspruchten: Dieselbe schwankte zwischen 17—19 (Schloß Johannisberger Hefen) und 31 Tagen (Hefe von Müllheim i. Baden). Die Menge der entwickelten Gesamtkohlensäure war ziemlich gleich, dagegen zeigten sich wieder große Unterschiede im Verlaufe der Gärung, in der Dauer der Zeit bis zum Eintritte des Maximums der Kohlensäureentwicklung und in der Dauer der Periode der abnehmenden Gärung. Die Alkoholproduktion ist eine sehr ungleiche; die Differenz zwischen der gärschwächsten Rasse (Kreuznacher) und der gärkräftigsten (Walporzheimer und Rüdesheimer Hinterhaus) betrug nicht weniger als 1,61 Gewichtsprozent. Die gärschwächsten Rassen hatten also die Gärung bei dem erreichten Alkoholgehalt nicht weiterführen können. Endlich schwankt auch die Glycerinproduktion zwischen einem Minimum von 0,5248 g (Krimhefe) und einem Maximum von 0,7186 g in 100 ccm (Würzburger Hefe Schalksberg). Daß diese Unterschiede konstant sind, zeigte ein Versuch, bei dem zwei der schon zur vorigen Versuchsreihe verwendeten Hefen in Naturmost nochmals geprüft wurden: Auch hier zeigten sich in der Dauer und im Verlaufe der Gärung, in der Alkohol- und Glycerinproduktion ähnliche Unterschiede, wie bei der Versuchsreihe in Rosinenmost. Außerdem zeigen die verschiedenen Hefen aber auch durchgreifende Unterschiede in der Produktion von Bouquetstoffen.

Als Ansicht Müller-Thurgau's haben wir schon im Vorhergehenden kennen gelernt, daß die Bouquetstoffe ausschließlich von der Traube herkommen<sup>1)</sup>. Sie finden sich teils vorgebildet als aromatische Stoffe, vielleicht von der Natur ätherischer Oele (Mus-

1) Vergl. auch den Jahresbericht der kgl. Lehranstalt für Obst- und Weinbau zu Geisenheim 1883/84: Müller-Thurgau, Ueber die aromatischen und bouquetgebenden Stoffe im Weinstocke, p. 53. — Schon 1872 hatte Neubauer auf Grund seiner Untersuchungen ausgesprochen: „Diejenigen unbekannten Stoffe, die bei der Gärung das Bouquet des Weines liefern, sind nicht allein in der Traube enthalten, sondern finden sich auch in den Blättern, Ranken und jungen Trieben“. C. Neubauer, Ueber das Reifen der Trauben, (Vorl. Mitteilung.) (Annalen der Oenologie, Bd. II. 1872, p. 395.) Vergl. auch C. Neubauer, Beiträge zur Analyse des Weinlaubes und des im Frühjahr ausfließenden Saftes (Rebthränen). (Ibid. Bd. IV. 1874. p. 109—110), sowie: Chemische Untersuchungen über das Reifen der Trauben. (Ibid. Bd. V. 1876. p. 364.)

kateller u. dergl.), teils entstehen sie erst während der Gärung aus gewissen Grundstoffen, welche im Moste vorhanden sind. Sie finden sich auch in den Blättern der betreffenden Rebensorte. Nach Müller-Thurgau ist nun die Hefe ganz ohne Einfluß auf das Bouquet, was sich ja von den vorgebildeten aromatischen Stoffen von selbst versteht und auch von Wortmann selbstverständlich anerkannt wird. Wortmann bezeichnet diese aromatischen Stoffe Müller-Thurgau's nach dem Vorgange Kosutany's als primäre Bouquetstoffe. Während aber Müller-Thurgau jeden Einfluß der Hefe auf die bouquetgebenden Stoffe, auf die Produktion sekundärer Bouquetstoffe leugnet, hält Wortmann diesen Einfluß für sicher. Die früher erwähnten Versuche Müller's beweisen für seine Annahme nichts, weil er teils mit Rebsorten gearbeitet hat, die sehr reich an primären Bouquetstoffen sind, teils nur eine Hefe benutzt hat und zufällig vielleicht eine solche, welche sich nicht gerade durch die Produktion sekundärer Bouquetstoffe auszeichnete. Es ist, um die Wirkung der Reinhefen auf das Bouquet festzustellen, durchaus nötig, mit Mosten zu arbeiten, die arm sind an primärem Bouquet. Dazu eignen sich vor allen Dingen die Obstmoste, speziell der Apfelmost. Er weist u. a. hin auf die Versuche Nathan's, bei denen verschiedene Weinheferassen den mit ihnen vergorenen Apfelweinen einen ausgeprägten Weincharakter verliehen, andere dagegen nicht.

Damit war die viel umstrittene Frage nach dem Ursprunge der Bouquet- und Geschmacksstoffe und damit des Charakters der Weine mit einem Schlage geklärt. Gegenüber der Ansicht Müller-Thurgau's, der einen Einfluß der Hefe auf diese Verhältnisse überhaupt in Abrede gestellt hatte und die Bedeutung der Reinhefe nur in der Sicherung und prompten Durchführung der Gärung suchte, war durch Wortmann festgestellt, daß die Hefe außerdem auf die chemische Zusammensetzung des Gärproduktes, insbesondere also auch auf seinen Geschmack und sein Bouquet einen wesentlichen Einfluß ausübt. Müller-Thurgau hat diese Ansicht später selbst angenommen und weiter gebildet.

Wir treffen diese Wandlung schon im nächsten (III.) Jahresberichte der von ihm geleiteten Anstalt<sup>1)</sup>. Dort ist auch zum ersten Male das Hansen'sche Verfahren der Einzellkulturen acceptiert und zur Isolierung der Hefen angewendet. Die Zahl der gewonnenen sicher verschiedenen Heferassen wird auf ca. 100 angegeben, die sich teilweise schon direkt bei mikroskopischen Betrachten durch Größe und Form der Zellen oder makroskopisch durch das Aussehen ihrer Kulturen auf Mostgelatine unterscheiden. Besonders groß sind jedoch die Unterschiede bezüglich der Gärthätigkeit, die im Anschlusse an einschlägige Mitteilungen Wortmann's aus dem Jahre 1893, auf die wir später zurückkommen, in folgender Weise wiedergegeben werden:

---

1) III. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil 1892/93. Zürich 1894: Weitere Untersuchungen über die Physiologie der Hefe und die Bedeutung ausgewählter und reingefähteter Heferassen für die Weingärung. p. 73—89.



1) Schnelligkeit der Vermehrung in der zu vergärenden Flüssigkeit. — Unter den deutlichen Verschiedenheiten hinsichtlich dieses Punktes, der für die Praxis sehr wichtig ist, wird besonders hervorgehoben, daß manche Rassen noch bei ziemlichem Alkoholgehalte der Flüssigkeit zu wachsen vermögen, eine Eigenschaft, die für die Champagnerfabrikation und die Umgärung der Weine besondere Bedeutung besitzt.

2) Zeitpunkt des Eintrittes stürmischer Gärung.

3) Der Grad der stärksten Gärung. So betrug in einer Versuchsreihe die Kohlensäureabgabe der Hefe mit der höchsten Gärungsintensität am Tage der stärksten Gärung pro Liter in 12 Stunden 10,65 g, die einer anderen nur 4,51 g.

4) Die Dauer der Gärung.

5) Das Schäumen bei der Gärung ist auch zum Teil eine Rasse-eigenschaft, hängt aber auch von der Gärflüssigkeit ab.

6) Der Grad der Trübung des Mostes bei der Gärung.

7) Hellwerden des Weines.

8) Absitzen der Hefe, für die Schaumweine, welche degorgiert werden, nachdem die Hefe auf den Stopfen gerüttelt ist, von der höchsten Bedeutung.

9) Der Vergärungsgrad.

10) Die Menge der gebildeten Hefe.

11) Mengenverhältnis der von verschiedenen Rassen erzeugten Gärprodukte. — Wortmann's Resultate werden bestätigt, doch wird die Verschiedenheit der Heferassen in der Glycerinproduktion noch als unsicher hingestellt wegen der großen Schwierigkeit, die einer genauen Glycerinbestimmung entgegensteht.

12) Bildung von Geruchs- und Geschmacksstoffen. — Wir haben schon oben darauf aufmerksam gemacht, daß Müller-Thurgau in dieser Beziehung seine Ansicht vollständig geändert hat. Er glaubt jetzt aus seinen Versuchen schließen zu dürfen, daß, wie der *Saccharomyces apiculatus*, so auch manche Rassen der Weinhefe (*S. ellipsoideus*) „einen deutlichen Einfluß auf Geruch und Geschmack des Weines ausüben“. Dagegen scheint es ihm „noch nicht genügend festgestellt, ob man es hier mit einer verschiedenartigen Umsetzung der sogenannten bouquetgebenden Stoffe zu thun hat, oder aber mit Geruchs- und Geschmacksstoffen, welche unabhängig von solchen Traubenbestandteilen von den Hefen bei ihren Lebensvorgängen gebildet werden“. Solche Geruchsstoffe entstehen nach seinen Versuchen, wenn man Zuckerwasser unter Zufügung der nötigen Hefennährstoffe vergären läßt, und zwar sind dieselben bei verschiedenen Rassen auch verschieden, riechen jedoch nicht besonders angenehm. Müller unterscheidet jetzt also außer den aromatischen Stoffen (primären Bouquetstoffen Wortmann's) unter denen, die Wortmann als sekundäre bezeichnet hat, zweierlei, solche, die aus vorgebildeten bouquetgebenden Stoffen, gewissen unbekannten Substanzen der Rebe entstehen, und solche, welche von der Hefe allein durch Umsetzung des Zuckers, also in allen Nährlösungen gebildet werden; letztere nennt er „Hefegeruchsstoffe“, hält sie jedoch für wenig beständig und meint, daß manche Heferassen im Weine, also

aus bouquetgebenden Stoffen bestimmte „angenehme, ihnen eigentümliche Geruchs- und Geschmacksstoffe zu erzeugen vermögen“.

Wir kehren zurück zum Jahre 1892. Nachdem die pflanzenphysiologische Versuchsstation in Geisenheim schon im Vorjahre Reinhefen zu Versuchszwecken an die Praxis abgegeben hatte, wurde in diesem Jahre die Hefereinzucht dort für die Zwecke der Praxis zuerst kleiner, 1893 im großen eingerichtet. Damit entstand eine Hefereinzuchtstation, zunächst allerdings nur als Abteilung der pflanzenphysiologischen Versuchsstation<sup>1)</sup>. Erst im Jahre 1894 am 1. Oktober wurde sie von dieser abgetrennt und selbständig gemacht als Hefereinzuchtstation des Deutschen Weinbauvereins<sup>2)</sup>. Auch wurde 1893 ein erster Kursus für Hefereinzucht abgehalten, um den Interessenten aus der Praxis Gelegenheit zu geben, sich sowohl theoretisch wie praktisch mit den Gärungsvorgängen und den wichtigsten Krankheiten des Weines, sowie mit der Züchtung und Anwendung der Reinhefen bekannt zu machen. Mit dem Jahre 1894 werden diese Hefereinzuchtkurse zu einer ständigen Einrichtung.

An Veröffentlichungen bringt das Jahr 1893 einen Vortrag von Aderhold, dem damaligen Assistenten der pflanzenphysiologischen Versuchsstation, auf dem Weinbaukongreß zu Neuenahr über die Verwendung und Bedeutung reiner Hefen bei der Weinbereitung<sup>3)</sup>. Der Vortrag legt den durch Wortmann's Arbeit geschaffenen Zustand der Angelegenheit dar und nimmt außerdem Bezug auf eine andere Arbeit Wortmann's, die wir später betrachten werden. Wortmann selbst berichtet: „Ueber die Anwendung von rein gezüchteten Hefen bei der Schaumweinbereitung“<sup>4)</sup>. Bei der Schaumweinbereitung kommt es darauf an, daß die Hefe nicht nur bei einem verhältnismäßig hohen Alkoholgehalt des Weines noch Gärung hervorzurufen imstande ist, sondern daß sie auch die Eigenschaft hat, sich leicht und sauber und vollständig in den verkehrt aufgestellten Flaschen auf den Stopfen rütteln zu lassen. Die Hefe muß körnig sein, darf nicht dazu neigen, in der Flüssigkeit suspendiert zu bleiben oder an den Wänden der Flasche anzuhafte. Früher war man dabei auf den Zufall angewiesen, die Reinhefe bietet ein Mittel, das Geraten der Cuvés zu sichern. Wortmann berichtet im obigen Aufsatz über einen Versuch mit 4 Reinhefen. Dieselben wurden in je eine Flasche des sterilisierten, gezuckerten Weines geimpft und, nachdem diese in Gärung geraten waren, mit ihrem Inhalt je ein Cuvé gestellt. Die Gärung derselben trat prompt ein, so daß 15 Tage nachher der gärende Wein in die Flaschen abgefüllt werden konnte. Beim Rütteln zeigten alle 4 Hefen ein gutes Verhalten,

1) Vergl. Wortmann, Einige Bemerkungen über die Vergärung von Mosten mit reingestühteter Hefe. (Weinbau und Weinhandel, Bd. X, 1892. No. 23, bes. p. 288, sowie Bd. XI. 1893. p. 413.)

2) Vergl. Weinbau und Weinhandel. Bd. XII. 1894. p. 538. — Bericht der Kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1894/95. Wiesbaden 1895. p. 74.

3) Bericht über die Verhandlungen bei Gelegenheit der Generalversammlung des Deutschen Weinbauvereins in Neuenahr am 14. und 15. Sept. 1893. Erstattet von H. W. Dahlen. Mainz 1894. p. 69 ff.

4) Weinbau und Weinhandel, Bd. XI. 1893. No. 30 u. 31.

aber doch unter sich graduelle Verschiedenheiten, sofern die eine Hefe, eine Schloß Johannisberger (II), sich ganz besonders gut und leicht rütteln ließ. Zum Teil beruht das jedenfalls auf der besonderen Größe der Einzelzellen dieser Hefe. Bei der Kostprobe war auch der Geschmack der erhaltenen 4 Schaumweine ein etwas verschiedener: Das Hervorragendste hatte auch in dieser Beziehung die Hefe Schloß Johannisberg II geleistet, ihr zunächst kam die Walporzheimer Hefe, der in absteigender Reihenfolge die Johannisberger Hefe I und die Kreuznacher Hefe folgten. Auch der Alkohol- und Glyceringehalt der fertigen Schaumweine war verschieden. Versuche mit Reinhefen aus Trübs der Champagne sind eingeleitet, und die Schaumweinkellerei, in welcher die beschriebenen Versuche vorgenommen waren, hat nicht gesäumt, von den guten Eigenschaften der Johannisberger Hefe II auch in ihrem Betrieb im großen entsprechende Anwendung zu machen. Eine Anweisung für den Praktiker, wie es die von der Station bezogene Hefe für die Zwecke der Schaumweinbereitung weiter zu behandeln hat, bildet den Schluß. Wir kommen darauf zurück.

Im gleichen Jahre kann Wortmann über günstige Erfahrungen bei der Apfelweinbereitung berichten<sup>1)</sup>. Eine Kellerei, welche Versuche mit aus Geisenheim bezogener rein gezüchteter Hefe gemacht hatte, urteilt über das Ergebnis in folgender Weise: „Soviel steht fest, daß der Einfluß der fremden Hefezellen (d. h. der reinen Weinhefe) sowohl im Geschmack wie im Bouquet des jungen Weines, der erst einmal umgestochen ist, nicht zu verkennen ist; der ganze Charakter nähert sich dem eines Weißweines.“ Wortmann greift hier auch zurück auf Versuche, welche Kramer im Jahre 1891 eingeleitet hatte<sup>2)</sup>. Er entnimmt dem Jahresberichte des Obstbauvereins für Mittelsteiermark 1891/92 die interessante Thatsache, daß der weinige Charakter dieser mit Reinhefe vergorenen Versuchsweine ein Preisgericht zu dem Urteil veranlaßte, diese Weine seien (bei der Obstweinausstellung) nicht konkurrenzfähig, da sie Mischungen von Trauben- und Apfelwein seien, das beste Zeugnis für die gute Wirkung der Weinhefe bezüglich des Bouquets und des Geschmacks.

Außer den schon erwähnten Mitteilungen Müller-Thurgau's im 3. Jahresberichte der Versuchstation und Schule Wädenswil, wo im wesentlichen die Resultate Wortmann's bestätigt und zum Teil erweitert wurden, brachte das Jahr 1894 einen weiteren, überaus wichtigen Beitrag zur Reinhefefrage durch das Erscheinen der zweiten umfangreichen Arbeit Wortmann's<sup>3)</sup>, deren Resultate übrigens schon 1893 in dem Vortrage Aderhold's auf dem Neuenahrer Kongreß mitgeteilt waren. Wortmann beantwortet dort auf Grund einer ausgedehnten Versuchsreihe die wichtige Frage, ob bei der Verwendung bestimmter Weinheferassen die spezifischen physiologischen Unterschiede der letzteren, wie sie in der früheren Arbeit festgestellt

1) Wortmann, Ueber die Verwendung von reinen Weinhefen bei der Apfelweinbereitung. (Weinbau und Weinhandel. Bd. XI. 1893. p. 463 ff.)

2) Kramer, Untersuchungen über die Vergärung des Apfelmostes mit rein gezüchteter Weinhefe. (Oesterreich. landw. Centralbl. 1891. Heft 3. p. 37—41.)

3) Wortmann, Untersuchungen über reine Hefen. II. Teil. (Landw. Jahrb. Bd. XXIII. 1894. p. 535 ff.)

waren, in verschiedenem Gärmaterial konstant bleiben, oder ob sie je nach der wechselnden Zusammensetzung des Mostes variieren. Untersucht wurde das Verhalten von drei verschiedenen Hefen, einer Schloß Johannisberger, derselben, die sich bei der Schaumweinfabrikation so gut bewährt hat, einer Würzburger Hefe (Stein) und einer Ahrweiler Rotweinhefe, in 41 verschiedenen Mosten, die wieder nach beendeter Gärung einer eingehenden chemischen Analyse unterworfen wurden. Pro Liter wurden ca. 1 Million Hefezellen eingesät. Bestimmt wurde die gebildete Hefemenge (der Zahl nach), die Gesamtmenge der entwickelten Kohlensäure, der Gehalt der Gärprodukte an Alkohol, Säure, Stickstoff, Glycerin, Extrakt und Asche. (Schluß folgt.)

### Referate.

**Lohmann, W.,** Ueber den Einfluß des intensiven Lichtes auf die Zellteilung bei *Saccharomyces cerevisiae* und anderen Hefen. [Dissertation.] 72 p. Rostock 1896.

Aus den Untersuchungen von Kry geht hervor, daß bei mäßigem Licht die Zellteilungen von *Sacch. cerevisiae* mit gleicher Lebhaftigkeit vor sich gehen, wie im Dunkeln. Diese Untersuchungen lassen die Frage offen, ob nicht unter der Einwirkung intensiveren Lichtes die Zellteilungen in anderer Weise verlaufen. Verf. hat deshalb auf Veranlassung von Kry diese Frage studiert.

Als Lichtquelle stand eine Siemens'sche Differential-Bogenlichtlampe für 15 Ampère Stromstärke zur Verfügung. Dieselbe wurde in einen nach zwei Seiten derart mit Oeffnungen versehenen Kasten gebracht, daß ein Beleuchtungswinkel von  $45^\circ$  und damit die höchste Intensität erreicht werden konnte.

Die Objekte wurden meist auf der einen Seite des Kastens in einem Winkel von  $20^\circ$  und 50 cm von der Lichtquelle entfernt aufgestellt, auf der anderen Seite in einem Winkel von  $72^\circ$  und 65 cm Abstand. Die Leuchtkraft entsprach auf der einen Seite 11590 Meterkerzen, auf der anderen nur 8000.

Als Substrat wurde 10-proz. gehopfte Würzelatine angewandt. Die Versuchshefe war die Brennereihefe Rasse II der Berliner Versuchsstation. Verf. stellte aus dem erhaltenen Materiale nach einem sehr umständlichen Verfahren nochmals Reinkulturen her.

Auf der einen Schmalseite eines Objektträgers wurde die Gelatine in Form eines Rechteckes aufgetragen und auf dieselbe ein Tropfen der in Wasser verteilten Hefe ausgestrichen. Die ausgesäten Hefezellen lagen also auf der Oberfläche der Gelatine, wodurch Ungleichheiten im Luftzutritt vermieden werden sollten.

Von den fertigen Aussaatplatten wurden je drei in mit feuchtem Sand angefüllte Glasbehälter der Gelatineseite der Lichtquelle zugekehrt, eingesteckt. Ueber die Behälter wurde einerseits ein lichtdurchlässiges, andererseits ein verdunkeltes Glaskästchen gestülpt und dann beleuchtet.

Die Temperaturschwankungen betrugen höchstens 0,1°.

Nach beendetem Versuche wurden die Kolonien durch Formaldehyddämpfe abgetötet und die Gelatine eingetrocknet. Nach dem eventuellen Aufweichen der Gelatine ließ jede Sprosskolonie (nach 7½—8 Stunden) deutlich erkennen, wieviel Tochterzellen aus der Mutterzelle hervorgegangen waren.

Auf die Vorversuche soll nicht näher eingegangen werden; es ging aus denselben mit Sicherheit hervor, daß intensives elektrisches Licht einen retardierenden Einfluß auf die Zellvermehrung bei *Sacch. cerevisiae* ausübte.

Selbst auf gewohntem Nährboden sprossen die Zellen nicht gleichmäßig, wenn die Temperatur nicht die gewöhnliche ist. Hefe, bei Zimmertemperatur, etwa 17,5° C, gezüchtet, soll bei 8° nicht sprossen, tagelang unthätig bleiben, und erst dann wieder zu neuen Sprossungen ansetzen, wenn die Temperatur wieder annähernd auf denselben Stand gebracht wird.

Nach des Verf.'s Beobachtungen soll sich die Jungkolonie während der Sprossung drehen. Diese Lageveränderung der Kolonie kommt erst zur Ruhe, wenn die erste Tochterzelle gesproßt hat und die entstandene Zelle nahezu ausgewachsen ist.

Ein Uebergang von der Würzegelatine, an welche die Hefe gewöhnt war, zu dem durch das Belichten bei höherer Temperatur notwendig werdenden Würzeagar, ja selbst von einem gewohnten Agar zu einem aus einer Würze frisch bereiteten von gleichzeitig etwas veränderter Zusammensetzung, läßt den Versuch häufig mißlingen. Auch Zellen, die behufs besserer Isolierung mehrere Tage in sterilem Wasser verteilt und häufig geschüttelt wurden, versagten auf einem festen Nährboden.

Die auf festem Nährboden gezogenen Zellen setzten, in Würze verteilt, nicht sofort zur Sprossung an, sondern mußten erst einige Zeit ruhen.

Die Riesenkolonien auf Agar zeigen wegen Absonderung einer nicht nur geringen Menge einer flüssigen Schicht auf der Oberfläche nicht die für die einzelnen Arten charakteristischen Formen der Gelatinekulturen, sondern verschwommene Schichtung. Die *Mycoderma*arten trocknen die Agaroberfläche aus und bilden charakteristisch gestaltete, den Gelatinekulturen völlig entsprechende Kolonien.

Die wichtigste und unerläßlichste Vorbedingung für das Gelingen der Versuche ist eine vollkommene, womöglich überreichliche Dunst-sättigung innerhalb der exponierten Glasgefäße.

Verf. führt 16 Versuche mit Hefe an, bei welchen mit Licht von verschiedener Intensität — in einem Falle wurde eine Bogenlichtlampe von 20 Ampère Stromstärke verwendet — bei verschiedener Temperatur und verschieden langer Einwirkungszeit gearbeitet wurde.

Im zweiten Abschnitt werden Versuche über den Einfluß des Lichtes auf die Zellteilung bei *Sacch. cerevisiae* unter Benutzung der natürlichen Lichtquelle, der Sonne, mitgeteilt.

Bei den Versuchen über die Wirkung des Sonnenlichtes wurden die Agarplatten in Petrischälchen exponiert. Das eine der Schälchen

war mit einem dauerhaften schwarzen Lack überzogen, das andere war lichtdurchlässig.

Die Petrischälchen wurden so tief in Wasser eingetaucht, daß dieses fast bis an den Deckel derselben reichte. Die Temperatur überschritt in dieser Weise 26° C nicht.

Die vielfachen, in den Monaten Mai und Juni bei hellem Sonnenschein ausgeführten Versuche hatten stets das Resultat, daß nach mehrstündiger heller Besonnung bei einer Temperatur, die das Optimum nicht überschritt, die Hefezellen völlig abgetötet waren und sich nicht wieder erholten, wie bei unterbrochener schwacher Besonnung, die im Dunkeln gehaltenen Zellen hatten sich stets der Temperatur entsprechend vermehrt.

Die besonnenen und die im Dunkeln gehaltenen Zellen zeigten mikroskopisch wesentliche Verschiedenheiten. Während die im Dunkeln gezogenen sämtlich das Aussehen gesunder Hefe hatten, waren die besonnenen geschrumpft und zeigten unregelmäßige Umrisse. Das Plasma hatte sich zu einigen unregelmäßigen Klumpen zusammengeballt, die meist an den Polen der Zellen lagen.

Die Versuche über den Einfluß des intensiven Lichtes wurden auch noch auf folgende Arten ausgedehnt.

1) Kahlhefen, und zwar *Mycoderma cerevisiae* No. 101 (P. Lindner) und eine andere, nicht näher bestimmte, langfädige Form.

2) *Saccharomyces Pastorianus* L.

3) *Torula*, zwei Arten.

Die Versuche wurden gleichfalls in Petrischälchen mit Thermometer unter regelmäßiger Kühlung durch Zuließenlassen von Wasser in eine Schale, in welcher sich die Petrischälchen befanden, angestellt. Bei unterbrochener und nicht sehr heller Besonnung trat insofern ein Unterschied zwischen den 3 Hefen ein, als *Sacch. Pastorianus* I sich am widerstandsfähigsten gegen unterbrochene Insolierung erwies. Nach eingetretener Lichtstarre erholte sich von *Sacch. Pastorianus* stets ein größerer Prozentsatz als von den beiden anderen Arten, wenn auch, seiner Eigentümlichkeit entsprechend, sehr langsam. Ihm zunächst stand *Torula*, während sich *Mycoderma* wie *Saccharomyces* verhielt. Mehrstündige helle Besonnung aber im entsprechenden Belichtungswinkel hatte bei allen drei Arten, in völliger Uebereinstimmung mit *Sacch. cerevisiae*, stets den Erfolg, die Zellen zu töten und ihr Aussehen in einer Weise wie bei *Saccharomyces* beschrieben, zu verändern. Man kommt demnach zu dem Endergebnis, daß starkes Sonnenlicht alle Hefenarten tötet.

Das Gesamtergebnis der Versuche wird, wie folgt, zusammengefaßt. Nachdem durch Vorversuche festgestellt war, daß intensives elektrisches Licht einen retardierenden Einfluß auf die Zellteilung bei *Sacch. cerevisiae* überhaupt ausübt, wurde durch systematische Versuche mit Sicherheit nachgewiesen, daß längere und intensivere Belichtung eine gesteigerte Hemmung in der Zellteilung verursacht. So steigern sich die Zahlenunterschiede zu gunsten der nicht belichteten Zellen fast bis zum Verhältnis 1:2 und würden bei

länger andauernder Belichtung noch größer gewesen sein, wenn die Zellen in den entstandenen großen Kolonien noch genau zu zählen gewesen wären. Nach dem Aufhören der Belichtung findet an bestimmten Grenzen noch eine Nachwirkung statt, wenigstens insofern, als nach mehrstündigem Weitersprossen bei zerstreutem Tageslicht kein Wiederausgleich festgestellt werden konnte.

Auch das natürliche Licht, schon zerstreutes Tageslicht von einiger Helligkeit, wirkt schwach retardierend, im Verhältnis: 7,5 : 8 und 5,0 : 5,8, wie die entsprechenden Versuche zeigen. Nach verhältnismäßig kurzer, intensiver Besonnung aber tritt eine Lichtstarre ein, die je nach der Dauer der Einwirkung früher oder später von den Zellen nach dem Aufhören der intensiven Besonnung wieder überwunden wird oder bei höchster Intensität zum Tode führt.

Die anderen, in den Bereich der Untersuchung gezogenen Hefen verhielten sich, abgesehen von gewissen besonderen Eigentümlichkeiten, gleich.

Die Gründe, weshalb intensiveres Licht die Sprossungen und Zellteilungen der untersuchten Hefen nachteilig beeinflusst, entziehen sich zur Zeit der Beurteilung.

H. Will (München).

**Bokorny, Th.,** Ueber die Kohlenstoffernährung der Sproßhefe. (Dingl. polyt. Journal. 1897.)

Bekanntlich kann die Hefe aus verschiedenen organischen Verbindungen ihren Kohlenstoffbedarf decken, z. B. aus Zucker, Eiweiß, Glycerin etc.

Verf. giebt eine Uebersicht der bis jetzt versuchten Nährstoffe und untersucht eine Anzahl weiterer Kohlenstoffverbindungen auf ihre Brauchbarkeit zur Hefenernährung.

Von den Alkoholen (und Phenolen) ist der Methylalkohol, mit dem Spaltpilze ernährt werden können, keine Kohlenstoffnahrung für Hefe, ebenso wenig Aethylalkohol<sup>1)</sup>, Amylalkohol, Propylalkohol, Benzylalkohol. Aethylenglykol ist zweifelhaft; Glycerin ist eine gute Nahrung für Hefe, Phenol keine Nahrung, desgleichen nicht Brenzkatechin, Resorcin, Gallussäure, Tannin, Pyrogallussäure, Hydrochinon (dieses eine Nahrung für Schimmel), Orthoxylenol, Kresol.

Die aromatischen Hydroxylverbindungen sind zur Kohlenstoffernährung der Hefe weniger günstig als die der Fettreihe, wo wenigstens die mehrwertigen Alkohole als gute Nahrung angesehen werden müssen.

Die Sproßhefe ist ferner in ihrer Kohlenstoffernährung viel enger begrenzt als die Spalthefe; nur wenige Verbindungen sind für sie Nahrung.

Organische Säuren sind als freie Säuren nicht zur Ernährung verwendbar, weil die Acidität der Lösung schädlich wirkt. Die Lösungen müssen neutralisiert werden mit Kali u. dgl.

Propionsäure ist keine Kohlenstoffnahrung für Hefe, Bernsteinsäure keine oder doch eine sehr schlechte Nahrung. Asparagin-

1) Nach Anderen wird Alkohol verbraucht, wenn Pepton als Stickstoffnahrung geboten wird.

säure ernährt die Hefe. Nicht brauchbar sind Chinasäure, Paraoxybenzoësäure (diese aber wohl für Bakterien). Essigsäure, Citronensäure und Weinsäure sind Nährstoffe für Hefe.

Unter den Aldehyden finden sich, soweit bis jetzt untersucht, keine zur Ernährung der Hefe tauglichen Substanzen (abgesehen von den Kohlehydraten mit Aldehydgruppe). Aldehyde sind wegen des Giftcharakters der Aldehydgruppe, welche leicht in gewisse Atomgruppen des aktiven Albumins eingreifen kann, von vornherein schwierig zur Ernährung zu verwenden; man muß die Verdünnung sehr weit treiben, um die Giftwirkung zu beseitigen. Aethylaldehyd, Formaldehyd, Oxybenzaldehyd, Orthonitrobenzaldehyd, Glyoxal erweisen sich als unbrauchbar.

Daß manche Kohlehydrate eine ausgezeichnete Kohlenstoffnahrung für Hefe bilden, ist schon lange bekannt, z. B. Rohrzucker, Dextrose. Nach Untersuchung des Verf.'s kann auch Rhamnose, Sorbose, Arabinose, Mannose, Xylose von Hefe assimiliert werden. Daß Mannit, Erythrodextrin, Salicin, Amygdalin, Maltose von Hefe unter Glykogenbildung assimiliert werden, hat E. Laurent gezeigt. Erythrit wird nach demselben schwach assimiliert ohne Glykogenbildung.

Von Amidverbindungen sind Asparagin (nach Birner), Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glutamin (nach E. Laurent) Kohlenstoffquellen für Sproßhefe. Nach Untersuchungen des Verf.'s sind Toluidin, Anisidin, Nitränilin nicht zur Kohlenstoffernährung der Hefe tauglich; nach Laurent eignen sich auch Methylamin, Aethylamin, Propylamin, Formamid, Acetamid nicht hierzu.

Nitrozimmtsäure, Nitrotoluol und Benzol können nach Verf. ebenfalls nicht zur Kohlenstoffernährung der Sproßhefe dienen.

Im großen und ganzen läßt sich sagen, daß die Saccharomycesarten viel wählerischer in ihrer Kohlenstoffnahrung sind als die Spaltpilze.

Erstere haben offenbar nicht die große Oxydations- und Zerspaltungskraft, welche den Spaltpilzen die Verwendung so zahlreicher Kohlenstoffverbindungen ermöglicht. Insbesondere scheint es der Sproßhefe nicht möglich zu sein, den Kohlenstoffring im Benzolkerne zu spalten.

**Bokorny, Th.,** Die organische Nahrung der Bakterien und Hefezellen; Beziehung der Nährkraft zur chemischen Konstitution. (Allgem. Brauer- u. Hopfenzeitung. 1896. No. 138—140. p. 2412.)

Spalt- und Sproßpilze sind auf organische Nahrung angewiesen, die sie den verschiedensten organischen Verbindungen, selbst den sehr einfach konstituierten, entnehmen können. Verf. bringt eine tabellarische Zusammenstellung der bis jetzt auf ihre Nährkraft, resp. Giftigkeit untersuchten organischen Verbindungen gegenüber Bakterien und Hefezellen.

Die Tabellen enthalten den Namen der betreffenden organischen Substanz, ihre Brauchbarkeit zur Ernährung für Pilze, den Publi-



kationsort und die Autoren, unter denen hauptsächlich Loew, Nägeli, B. Meyer und der Verf. hervortreten.

Im allgemeinen geht aus den Tabellen hervor, daß die Ernährung um so leichter gelingt, je weniger das Nahrungsmittel in der Zelle umgewandelt zu werden braucht, d. h. je ähnlicher das Nahrungsmittel dem daraus zu bildenden Produkt der Zelle ist. Darum sind Eiweißkörper, Zucker und Glycerin zu den besten Nährstoffen zu zählen. Die einfachen organischen Verbindungen werden schwieriger assimiliert; bei den nicht giftigen aromatischen Stoffen verhindert wahrscheinlich die Festigkeit des Benzolkerns eine Zerstörung desselben durch den Lebensprozeß der Zelle.

L. Steuber (München).

**Mörner, Carl Th.,** Ueber ein eigentümliches Nahrungsmittel nebst einigen Beobachtungen über darin angetroffene Fäulnisbasen. (Zeitschr. f. physiologische Chemie. Bd. XXII. 1897. p. 514—521.)

Ueber den Geschmack läßt sich bekanntlich nicht streiten, und es gibt ja auch bei uns immerhin das eine oder allgemein übliche Nahrungsmittel z. B. den Käse, manches Wildpret, das erst durch eine gewisse fäulnisartige Gärung einen besonders beliebten Wohlgeschmack gewinnt. Bei Völkern und in Gegenden, die weniger von der Kultur beleckt sind, ist bekanntlich die Zahl solcher Gerichte, die erst durch eine mehr oder weniger dem Faulen nahestehende Vorbereitung genußfähig gemacht werden, eine weit größere. Der Verf. beschäftigt sich im vorliegenden Aufsätze, wesentlich vom Standpunkte des Chemikers, mit einer in gewissen Gegenden des nördlichen Schwedens üblichen Methode, Fische zu konservieren, mit der Bereitung des sog. Gärfisches (schwed. „surfisk“), speziell mit der des Gärströmlings.

Die frisch gefangenen Fische werden dabei ausgenommen, abgespült und in hölzerne Tonnen nicht allzu dicht verpackt. Dann werden sie mit der bei einer früheren Bereitung des Gärfisches gewonnenen Lake, die mit Wasser aufs doppelte verdünnt wird, übergossen, bis die Fische bedeckt sind, worauf die Tonne geschlossen und gedichtet wird. Die so beschickten Fässer werden dann im Freien an einer sonnigen Stelle aufgestapelt und bleiben hier 4—5 Wochen liegen. Der Gang der sich bald einstellenden Gärung wird durch Oeffnen eines kleinen Ventils von Zeit zu Zeit kontrolliert. Wird dieselbe zu heftig, so werden die Fässer in den Schatten oder an eine kühlere Stelle gerollt. Sobald das gewünschte Stadium erreicht ist, werden die Fässer geöffnet und die fertige Ware wird in kleinere Gefäße zur Aufbewahrung verpackt. Der so erzeugte Gärströmling wird roh oder gebraten gegessen.

Verf. beschäftigt sich mit der Frage, welcher Art die Veränderungen sind, welche bei diesem unzweifelhaft durch Bakterien verursachten Gärungsvorgang in dem frischen Strömling eintreten.

Was zunächst den außerordentlich intensiven Geruch des Gärströmlings angeht, so wurden in dem Gasgemisch, das einem Tönnchen beim Anbohren entströmt, nachgewiesen Kohlensäure, Schwefelwasser-

stoff und insbesondere das höchst übelriechende Methylmercaptan, dessen Bleiverbindung gewonnen und durch die Bestimmung des Bleigehaltes identifiziert wurde. Außer diesen Gasen wurden in der Ware selbst folgende Verbindungen, die im frischen Strömling nicht vorhanden, also durch die Gärung entstanden sind, aufgefunden: Von organischen Säuren ziemlich viel Bernsteinsäure, reichliche Mengen flüchtiger Säuren, überwiegend aus Buttersäure, daneben aus Ameisen-, Essig- und Valeriansäure bestehend, ferner reichlich feste Fettsäuren, offenbar aus der Spaltung von Neutralfetten herrührend; dazu kommen von Basen Ammoniak in großer Menge und einige Ptomaine, von denen Dimethylamin, Trimethylamin und Cholin isoliert und durch ihre Quecksilber- resp. Platinchlorid-Doppelsalze identifiziert wurden, während das Vorkommen von Methylamin nur wahrscheinlich gemacht werden konnte; reichlich fand sich ferner Leucin vor, während Tyrosin fehlte; Aethylalkohol und Aceton waren nur in sehr unbedeutender Menge zugegen. Es überrascht das Fehlen der bei der gewöhnlichen Fäulnis stets entstehenden Indol, Skatol, Phenol, Putrescin und Cadaverin.

Behrens (Karlsruhe).

**Nijpels, Paul**, Les champignons nuisibles aux plantes cultivées et les moyens de les combattre. Avec nombreuses gravures et reproductions de photographies. (Bibliothèque nationale d'Agriculture, Liège 1896.)

Die gekrönte Preisschrift, welche durch zahlreiche gelungene Abbildungen und Photographieen im Text ausgezeichnet ist, behandelt kurz und verständlich die wichtigeren von Kryptogamen bewirkten Krankheiten der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfungsmittel.

Kapitel I enthält allgemeine Bemerkungen über Schmarotzerpilze und Fungicide; Kap. II die hauptsächlichsten Gegenmittel und ihre Anwendung. Kap. III behandelt die Getreidekrankheiten: Rost, Schwärze, Mehltau, Schmier- und Flugbrandarten, *Dilophia* und *Ophiobolus graminis*, Mutterkorn. Kap. IV die Krankheiten der Futterpflanzen: die Krankheiten der Wiesengräser, verursacht durch Uredineen, *Ustilagineen*, *Phyllachora graminis*, *Epiclloë typhina*, *Cystopus candidus* und durch höhere Pilze (Hexenringe); die Schädigungen des Klees, der Luzerne etc. durch *Sclerotinia trifoliorum*, *Erysiphe communis*, *Peronospora trifoliorum*, *Uromyces Trifolii*, *Leptosphaeria circinans*, *Pseudopygia Trifolii*.

Kap. V: Krankheiten der Feldpflanzen und Industriepflanzen. Hier werden die Krankheiten der Kartoffeln etc. (durch *Phytophthora*, *Fusisporium solanum*, Bakterien, *Rhizoctonia Solani*, *Fusarium*), der Zuckerrüben (durch Insekten, *Atomaria linearis*, die Pilze: *Sclerotinia Libertiana*, *Clasterosporium putrefaciens*, *Phoma Betae*, *Peronospora Schachtii*, *Uromyces Betae*, *Cercospora beticola*, *Sclerotinia*, *Botrytis* etc.), des Flachses (durch *Melampsora lini* etc.), des Hopfens (durch *Sphaerotheca Castagnei*, *Fumago salicina*), des Tabaks (Mosaikkrankheit durch Bakterien, die Schä-



**Fischer, Ed.**, Observations sur les Urédinées. (Bibliothèque universelle. Archives des Sc. phys. et nat. Année CI. IV périod. T. II. Genève 1896. 4 p.)

Die Kulturversuche des Verf.'s ergaben, daß von den heteröischen *Carex*-rosten, welche ihre Aecidien auf *Cirsium* bilden, zwei Species sorores oder spezialisierte Arten existieren, deren eine, im Oberengadin auf *Carex frigida* vorkommend, auf *Cirsium rivulare*, *spinosissimum*, *heterophyllum*, *eriphorum* Aecidien bildet, dagegen nicht auf *C. oleraceum* und *C. palustre*, während die andere von *Carex dioica* und *Davalliana* um Bern, auf *Cirsium rivulare spinos.*, *heteroph.* und *palustre* und *oleraceum* Aecidien bildet. Weiter fand Verf., daß *Peridermium pini corticolum* sowohl auf *Vincetoxicum officinale* als auf *Paeonia tenuifolia* Teleutosporen (und Uredosporen) bildet, *Cronartium asclepiadeum* und *C. flaccidum* also identisch sind.

F. Ludwig (Greiz).

**Berger, M. N.**, Ueber das gleichzeitige Auftreten von *Uromyces Betae* und *Phoma Betae*. (Bulletin de l'Association belge des chimistes. Bd. X. 1896. p. 336.)

Die Krankheit brach Mitte Juni aus und charakterisierte sich in der Weise, daß die Rübenblätter abwelkten, schließlich schwarz wurden, faulten und abfielen. Der Hals der Rübe wurde rissig, mißgebildet und schwärzte sich, und in den schwarzen Partien der Wurzel wurde das Mycelium von *Phoma Betae* gefunden. Infolge reichlicher Regenfälle erholten sich die Rüben, so daß kaum ein Unterschied gegenüber den Gesunden zu erkennen war. Als bald bedeckten sich aber die Blätter, sehr selten jedoch die Herzblätter, an ihrer Unterseite mit gelben Pusteln, welche die Epidermis des Blattes durchdrangen und charakterisiert dies das Auftreten der zweiten Krankheit. Die Blätter vertrockneten schließlich, ebenso auch die später noch erkrankten Herzblätter. In den ersten Tagen des November nahm die Hauptwurzel eine bläuliche oder schwärzliche Farbe an, die Epidermis löste sich ab, die Rübe schälte sich wie eine frische Nuß und ihre Konsistenz war weicher geworden. Was die erste Krankheitserscheinung anbetrifft, so besteht dieselbe in dem Verfaulen des Herzens und wird, wie erwähnt, durch *Phoma Betae* verursacht. Bei der zweiten Krankheitsform wurde unzweifelhaft *Uromyces Betae* nachgewiesen. Die näheren Untersuchungen lehrten, daß sich die kranken Rüben in fast vollständiger Degeneration befanden. Da nun die kranken Rüben, infolge ihrer beschädigten Organe, nicht mehr in der Lage waren, die Nährstoffe des Bodens zu assimilieren, so haben sie sich von ihrer eigenen Substanz ernährt. Der Schwäche der Organe der kranken Pflanzen ist nun wahrscheinlich die Ursache des Auftretens der zweiten Krankheit zuzuschreiben, denn die kranken Rüben vermochten den Angriffen von *Uromyces Betae* keinen Widerstand zu leisten und auf diese Weise kann man die erste Krankheit als die Ursache der zweiten betrachten.

Die Krankheit hat nicht nur eine Depression im Gewicht, son-

dern auch im Zuckergehalt der Rüben herbeigeführt und berechnet Verf. den Ausfall an Zucker auf ungefähr 2000 kg pro ha.

Bezüglich der Ursachen über das Auftreten der Krankheit liegt noch keine bestimmte Meinung vor. Möglicherweise ist eine erhöhte Stickstoffdüngung von Einfluß und zwar insofern, als allmählich das Verhältnis derselben zur Menge der Phosphorsäuredüngung ungünstig verschoben wird.

Bezüglich der anzuwendenden Bekämpfungsmaßregeln müßten außer Vermeidung des Vorwiegens von Stickstoffdünger im Verhältnis zur Phosphorsäure folgende Vorsichtsmaßregeln ergriffen werden: 1) Vermeidung der Uebertragung der Krankheit aus anderen Böden durch Abfälle kranker Rüben im Dünger, 2) zeitweise Einstellung des Rübenbaues auf verseuchten Feldern, 3) Verwendung von nur gesunden Samen.

Zur Imprägnierung von Rübensamen hat Verf. Kupfervitriol und Sublimat versucht, und empfiehlt sich zu diesem Zwecke hauptsächlich die Lösung von  $\frac{1}{1000}$  Sublimat.

Stift (Wien).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Blum, J.,** Die konservierenden Eigenschaften des Formalin (Formol). (Ref. Pharm. Centralhalle. Bd. XXXVII. No. 33.)

Die Erfahrungen des Verf.'s sind folgende:

Formol härtet tierische Objekte, ohne sie schrumpfen zu machen und ohne ihre mikroskopische Struktur und Färbbarkeit zu zerstören. In Formol gehärtete Tiere bewahren zum großen Teile ihre natürliche Form und Farbe. Das Auge bleibt in Formalin wesentlich klarer als in Alkohol. Das Mucin der schleimabsondernden Tiere gerinnt nicht und bewahrt seine Durchsichtigkeit. Der Blutfarbstoff, der bei den in Formalin gebetteten Gewebstücken scheinbar verschwindet, wird durch hochprozentigen Alkohol rasch und besonders schön wieder hervorgerufen. Pflanzliche Gebilde werden in Formol mehr oder weniger gut konserviert, gut verhalten sich die meisten Früchte. Chlorophyll wird nicht ausgezogen, kann sich aber je nach der Beschaffenheit der Blätter mit der Zeit verändern. Die Erhaltungsdauer der übrigen Farbstoffe ist ebenfalls bei den einzelnen Pflanzen verschieden. Mikroskopische Schnitte von Pflanzen, die selbst längere Zeit dem Formol ausgesetzt sind, liefern schöne Präparate. Das verdünnte Formol ist nicht brennbarer und wohlfeiler als der Alkohol. Die Verwendung von Formalin (30—40-proz. wässrige Lösung) geschieht zu den angeführten Zwecken, je nach der Beschaffenheit des Objektes, in Verdünnungen 1:10, 1:20, 1:30, 1:50. Das Eiweiß von Hühnereiern verliert durch Einlegen in eine 5-proz. Formalinverdünnung seine Eigenschaft, in der Hitze zu gerinnen. Zum Konservieren von Nahrungsmitteln ist Formalin ungeeignet.

Baier (Berlin).

Sajó, Carl, Die Spargelfliegen. (Oesterr. landw. Wochenblatt. 1897. p. 27.)

Zwei Dipteren-Arten können auf dem Spargel trostlose Verheerungen anrichten, und zwar die große bunte Spargelfliege (*Platyparaea poeciloptera* Schok.) und die kleine schwarze Spargelfliege (*Agromyza maura* Meig.). Erstere Art ist 7—8 mm lang, etwas schlanker als die Stubenfliege, chokoladeblau und von glänzender Oberfläche. Die Fliegen erscheinen im April und Mai, um auf den Spargelfeldern zu schwärmen. Aus den abgelegten Eiern kriechen vollkommen walzige, glänzende, fußlose, weiße Maden aus, die sich sogleich in dem zarten, weichen Fleische des jungen Spargelstammes abwärts durcharbeiten und möglichst schnell in den unterirdischen Teil hinabzugelangen trachten. Die erwachsenen Larven (Maden) sind 10—11 mm lang, vollkommen walzenförmig und glänzend weiß. Ihr Hinterteil ist stumpf abgeschnitten und schwarz. Am Hinterende besitzen sie einige kleine Haken, ebenso sieht man aus den Mundteilen dünne schwärzliche Haken hervorstehen. Vermittelst dieser Haken können die Larven in ihrem Gange nach Belieben auf- und abwärts steigen. Bevor sich die Larven verpuppen, wandern sie zumeist in die Höhe, so daß die Verpuppung meist etwa 4—6 mm unter der Erdoberfläche vor sich geht. In ihrer braunen Tonnenschale bleibt die Larve ohne Nahrungsaufnahme bis zum künftigen Frühjahr. Der Spargelstengel selbst geht in Fäulnis über. Stark angegriffene Spargelstengel wachsen nicht kerzengerade in die Höhe, sondern erleiden eine mehr oder weniger bedeutende Krümmung und ist diese Erscheinung das sicherste Zeichen der Infektion durch diese Fliegenart; nur kräftige Exemplare, in welchen wenige Maden schmarotzen, können gerade bleiben. Der Schädling lebt sowohl im kultivierten wie im wilden Spargel.

Von der Belästigung der großen Spargelfliegen kann man sich, weil diese Art ausschließlich nur im Spargel lebt, verhältnismäßig leicht befreien, wie Verf. später zeigen wird.

Viel bösartiger gestalten sich aber die Angriffe der kleinen schwarzen Spargelfliege, welche bis jetzt als Spargelverwüster überhaupt noch nicht angeführt wurde. Dieselbe lebt als Larve unmittelbar unter der Epidermis und unter den Schuppen versteckt, was beweist, daß sie selbst nicht im Innern, sondern in dem chlorophyllhaltigen grünen Gewebe der Peripherie ihr Wesen treibt; ein Umstand, der sie doppelt gefährlich macht. Die Fliegen sind etwa  $2\frac{1}{2}$  mm lang und, mit Ausnahme der durchsichtigen Flügel, vollkommen schwarz. Die winzigen, fahlen, fußlosen Maden fressen nicht nur oberirdisch, sondern auch an den unterirdischen Stengeln, wodurch das ganze Gewebe der Peripherie zerstört wird und solche Stengel vorzeitig vergilben. Der wilde Spargel wird ebenso angegriffen wie der kultivierte. Daß diese Art nicht nur auf dem Spargel zu leben vermag, sondern auch auf anderen Pflanzen, scheint vollkommen sicher zu sein. Verf. hat zwar ihre übrigen Nährpflanzen noch nicht aufgefunden, überzeugte sich aber, daß sich diese Art auch unabhängig vom Spargel vermehren kann.

Stift (Wien).

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Levy, E. u. Wolf, S., Bakteriologisches Notiz- und Nachschlagebuch. 12°. 120 p. Straßburg (Friedrich Bull) 1897.

Geb. in Leinw. u. m. Schreibpap. durchsch. 2,80 M.

Möller, A., Ueber die Bedeutung neuerer Pilzforschung für die Forstwissenschaft und den forstlichen Unterricht. Vortrag. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1897. Heft 2. p. 80—93.)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

Dorset, M., Crystal formation in culture media. A reply to Drs. Nowak and Ciechanowski. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. No. 11/12. p. 473—474.)

Exner, A., Anwendung der Engelmänn'schen Bakterienmethode auf die Untersuchung tierischer Gewebe. (Aus: Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss.) gr. 8°. 8 p. Wien (Gerold) 1897. 0,30 M.

McUorrie, D., A method of staining flagella. (Brit. med. Journ. 1897. No. 1894. p. 971.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

Ajello, S., Azione delle ptomaine della putrefazione sugli alcaloidi. (Riforma med. 1897. No. 82, 83. p. 75—78, 86—89.)

Arachequesne, G., Sur l'hypothèse d'une diastase saccharogénique dans la betterave. (Bullet. de l'assoc. d. chim. de sucre et de distill. — Journ. de la Distillerie franç. 1897. No. 664. p. 82—83.)

Blutlaus, die. Plakat m. 1 Farbdr. u. erläut. Text. 56,5×46 cm. Dresden (C. Heinrich) 1897. 1 M.

Boulanger-Dausse, E., Action du gaiacol sur la germination des spores de l'Aspergillus fumigatus. (Journ. de pharm. et de chim. 1897. No. 7, 8. p. 332—335, 386—388.)

Braun, M., Zur Entwicklungsgeschichte des Cysticercus longicollis Rud. (Zool. Anzeiger. 1897. No. 521. p. 1—2.)

—, Ueber Distomum lucipetum Rud. (Zool. Anzeiger. 1897. No. 521. p. 2—3.)

Bubák, F., Ein Beitrag zur Pilzflora der Umgegend von Hohenstadt in Mähren. (Oester. botan. Ztschr. 1897. No. 1. p. 11—15.)

Buchner, E., Fortschritte in der Chemie der Gärung. Antrittsrede. gr. 8°. 23 p. Tübingen (Franz Pietzcker) 1897. 0,80 M.

Camus, L., De la lipase dans les cultures d'aspergillus niger. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 8. p. 230.)

Cohn, L., Zur Kenntnis der Nerven in den Proglottiden einiger Tänien. (Zool. Anzeiger. 1897. No. 521. p. 4—6.)

Dietel, P., Untersuchungen über einige Brandpilze. (Flora. 1897. Heft 2. p. 77—87.)

v. Erlanger, E., Beobachtungen über die Befruchtung und ersten zwei Teilungen an den lebenden Eiern kleiner Nematoden. (Biolog. Centralbl. 1897. No. 4. p. 152—160.)

Grothe, G., Ueber die Keimung der Bakteriensporen. (Fortschr. d. Medizin. 1897. No. 2—4. p. 43—51, 81—88, 135—139.)

Guareschi, I., Einführung in das Studium der Alkaloide, mit besond. Berücksicht. der vegetabilischen Alkaloide u. der Ptomaine. In deutsch. Bearbeitg. hrsg. v. H. Kunz-Krause. 2. Hälfte. Lex.-8°. p. 305—657. Berlin (R. Gaertner) 1897. 18 M.

Hage, I. J., Note sur la fermentation. (Arch. génér. de méd. 1897. Févr. p. 157—165.)

Hensen, H., Ueber die Durchgängigkeit von Membranen für Fäulnisprozesse. (Ztschr. f. Biolog. Bd. XXXV. 1897. No. 1. p. 101—115.)

Heymons, E., Ueber die Organisation und Entwicklung von Bacillus rossii Fabr. (Aus: Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. zu Berlin.) gr. 8°. 11 p. m. 1 Fig. Berlin (Reimer) 1897. 0,50 M.

- Kieffer, J. J.**, Diagnoses de quelques cynipides nouveaux. (Bulet. de la soc. entomol. de France. 1896. No. 16. p. 370—371.)
- Kusserow, B.**, Abkürzung der Gärzeit. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. No. 12. p. 97—98.)
- Nadolny, A.**, Wann ist die 96-stündige Gärungsdauer anzuwenden? (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. No. 11. p. 89—90.)
- Richards, H. M.**, Development of acidia. (Proceed. of the Amer. Acad. of arts and science. Bd. XXXI. 1896. p. 255—270.)
- Rose, E.**, Un nouveau type générique de myxomycètes. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 8. p. 417—418.)
- Saare**, Ueber die Organismen in der Stärkefabrikation. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. No. 8. p. 65.)
- Tassi, F.**, Micologia della provincia senese. (Nuovo giorn. botan. ital. 1897. No. 1. p. 51—85.)
- Thiry, G.**, Contribution à l'étude du polychromisme bactérien. Bacille et Cladothrix polychromes; cristaux colorés. (Arch. de physiol. 1897. No. 2. p. 284—288.)
- Ward, H. B.**, New human tapeworm. (West. med. review. 1896. p. 35—36.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft und Wasser.

- Carpenter, T. B.**, Water purification. (Albany med. annals. 1897. No. 3/4. p. 141—161.)
- Cheesman, T. M.**, Common causes of the contamination of drinking water. (Albany med. annals. 1897. No. 3/4. p. 115—121.)
- Dunham, E. K.**, Methods of preventing the pollution of water. (Albany med. annals. 1897. No. 3/4. p. 162—167.)
- Guiraud**, Présence du streptocoque dans l'eau de boisson servant à l'alimentation d'un village de la Haute-Garonne sur lequel sévit une épidémie à caractères insolites. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 6. p. 155—158.)
- Roux, G.**, De l'expérimentation physiologique appliquée à l'analyse bactériologique des eaux. (Lyon méd. 1897. No. 13. p. 435—441.)
- Sedgwick, W. T.**, Discussion on papers on the pollution of water. (Albany med. annals. 1897. No. 3/4. p. 212—214.)

### Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

#### Fleisch.

- van Ermengem, E.**, De l'étiologie du botulisme. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 6. p. 155.)
- Hengst**, Bericht über die Vieh- und Fleischschau am städtischen Vieh- und Schlachthofe zu Leipzig für das Jahr 1896. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1897. Heft 6. p. 121—124.)
- Krüger**, Die Fleischvergiftung zu Sialkeim (Ostpr.). (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1897. Heft 6. p. 114—117.)
- Ostertag**, Untersuchungen über das Absterben der Rinderfinnen im ausgeschlachteten und in Kühlräumen aufbewahrten Fleische. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1897. Heft 7. p. 127—132.)

#### Milch, Molkerei.

- Bendixen, N.**, Die Mikroorganismen im Molkereibetriebe. Für Praktiker bearb. gr. 8°. IV, 44 p. m. 19 Abbildgn. Berlin (Paul Parey) 1897. 1,20 M.
- Harrison, F. C.**, Bacterial contamination of milk. (22. annual rep. of the Ontario agric. coll. etc. Toronto 1897. p. 105—114.)
- Massone, A.**, Sulla presenza del bacillo tubercolare nel latte del mercato di Genova. (Annali d'igiene sperim. Vol. VII. 1897. fasc. 2. p. 239—248.)
- Schwarzburg-Rudolstadt**, Polizei-Verordnung, betr. die Regelung des Verkehrs mit Kuhmilch. Vom 30. November 1896. (Veröffentl. d. kais. Gesundh.-A. 1897. No. 15. p. 338.)

#### Wein, Weinbereitung.

- Caseneuve, P.**, Sur quelques propriétés du ferment de la casse des vins. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 14. p. 781—782.)



- Chambard, A.**, Vers blancs et chlorose. (Vigne améric. 1897. No. 2. p. 47—53.)  
**Fallot, B.**, Rôle de l'air dans la vinification. (Moniteur vinicole. 1897. No. 17. p. 65—66.)  
**Kayser, E. et Barba, G.**, Contribution à l'étude des levures de vin. (Rev. de viticulture. 1897. No. 167. p. 221—225.)

### Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Frank**, Ueber die neueren Forschungen der Ursache des Faulens der Kartoffeln. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. No. 8. p. 65—66.)  
**Jones, L. B.**, The disinfections of seed potatoes. (Annual rep. of the Vermont experim. stat. 1896. p. 98—102.)

### Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Pfuhl, E.**, Untersuchungen über die Verwendbarkeit des Formaldehydgases zur Desinfektion größerer Räume. [Forts.] (Ztschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXIV. 1897. Heft 2. p. 289—302.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

#### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Aderhold, B.**, Ueber den Vermehrungspilz, sein Leben und seine Bekämpfung. (Gartenflora. 1897. Heft 5. p. 114—126.)  
**Arthur, J. C.**, The common Ustilago of maize. (Botan. Gaz. 1897. No. 1. p. 44—46.)  
**Baldrati, J.**, Contributo alla ricerca della esologia della antracnosi punteggiata della vite. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1897. No. 1. p. 10—12.)  
**Balfour, G.**, The potato rot and strawsonite. (Gard. chron. 1896. No. 486. p. 493.)  
**Bericht über die Verbreitung der Reblaus (Phylloxera vastatrix) in Oesterreich in den Jahren 1894 und 1895. Nebst Gesetzen, Verordnungen und Erlässen, betr. die Reblaus.** Veröffentlicht im Auftrage des k. k. Ackerbauministeriums. Wien 1896.  
**Brecher**, Ueber ein bemerkenswertes Auftreten von Eichen-Schildläusen (Lecanium Quercus) in Verbindung mit Eichenschleimflüssen. (Forstl.-naturwissensch. Ztschr. 1897. Heft 2. p. 66—69.)  
**Chodat, R.**, Sur les mycorhizes du *Listera cordata*. (Laboratoire de botan. 3. sér. fasc. 4. Genève 1896.)  
**Cobb, M. A.**, The hot-air treatment for stinking smut or bunt. (Agl. Gaz. N. S. Wales 1896. No. 2. p. 82—83.)  
**Craneffeld, F.**, Eel worms. (Amer. florist. 1896. No. 412. p. 1045—1046.)  
**Croquevielle**, Emploi du sulfate de fer pour la destruction des cryptogames parasites de la vigne. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 8. p. 418—419.)  
**Dern**, Empfehlen sich Zwangsmaßregeln zur Bekämpfung der Peronospora des Weinstockes? (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 10. p. 76—77.)  
**Dosch, L. u. Spiess, K.**, Die Reblausinfektionen und deren Bekämpfung in Württemberg. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 10. p. 83—84.)  
**Forbes, A. C.**, Some diseases of conifers. (Gard. chron. 1896. No. 488. p. 553—554.)  
**Greenwood, P.**, New fungal disease of rape. (Journ. of bot. British and foreign. 1897. No. 410. p. 57—58.)  
**Grimaldi, C.**, I nemici delle fave orobanche e mal dello sclerosio e mezzi di combatterli. 8°. Palermo 1897. 1 £.  
**Halsted, B. D.**, The black knot of the wild cherry. (Forester. 1896. No. 3. p. 39—40.)  
**Harrison, F. C.**, Foul brood in bees (*Bacillus alvei*). (22. annual rep. of the Ontario agricult. college etc. Toronto 1897. p. 258—260.)  
**Höllrung, M.**, Bemerkungen über die im Jahre 1896 in der Provinz Sachsen wahrgenommenen Pflanzenkrankheiten. (Dtische landwirtschaftl. Presse. 1897. No. 18, 23, 31, 32, 34. p. 156—157, 206—207, 281—282, 294, 308—309.)  
**Jones, L. B.**, Potato blights. (Annual rep. of the Vermont experim. stat. 1896. p. 66—88.)  
 —, Bordeaux mixture. (Annual rep. of the Vermont experim. stat. 1896. p. 88—98.)  
 —, Orchard diseases and remedies. (Annual rep. of the Vermont experim. stat. 1896. p. 102—105.)  
 —, Some observations regarding oat smut. (Annual rep. of the Vermont experim. stat. 1896. p. 106—112.)

- Jones, L. E.**, Onion mildew in Vermont. (Annual rep. of the Vermont experim. stat. 1896. p. 113—115.)
- Kurts, H.**, Kaffeeschädlinge im Togogebiet. Mitteil. v. Forschungsreisend. u. Gelehrten a. d. dtsh. Schutzgebiet. (Wissensch. Beih. z. dtsh. Kolonialbl. Bd. X. 1897. Heft 2. p. 87—88.)
- Lavoux, F., Guillaud, J. A. et Poitevin, E.**, La conservation des vignes malgré le phylloxéra. (Moniteur vinicole. 1897. No. 15. p. 58.)
- Lutz, L.**, Etude de la gommose chez l'*Aralia spinosa*. (Bullet. de la soc. botan. de France. 1896. No. 8. p. 513—516.)
- Massalongo, C.**, Sopra le foglie di *Nerium Oleander* deformate dall' *Aspidiotus Nerii*. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. p. 120—123.)
- , Intorno all' acarocecidio della „*Stipa pennata* L.“ causato dal „*Tarsonemus Canestrinii*“. (Nuovo giorn. botan. ital. 1897. No. 1. p. 103—110.)
- , Sopra alcune milbogalle nuove per la flora d'Italia. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. p. 52—61.)
- , Intorno alla galla di *Pemphigus utricularius*. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. p. 105—107.)
- Massee, G.**, Root diseases in New Zealand caused by *Rosellinia radiciperda*. (Bull. Royal gardens. 1896. 5 p.)
- Mayet, V.**, *Margarodes vitium*. (Agl. Journ. of Cape Colony. 1896. No. 7. p. 159—161.)
- Montemartini, L.**, Un nuovo micromicete della vite, *Aureobasidium vitis* Viala et Boyer var. album. (Estr. d. Atti d. R. Istit. botan. d. Università di Pavia. Vol. V. 1897.) 4<sup>o</sup>. 4 p. Pavia 1897.
- Oberlin, Ein Wort aus dem Elsaß** über die württembergischen Reblaus-Infektionen. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 11. p. 85—86.)
- Obertreis, H.**, Forstzoologisches (*Hylesinus micans*). (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1897. Heft 2. p. 93—95.)
- Panton, J. H.**, Bordeaux mixture as an insecticide — Inspection of localities where injurious insects and plants are doing much damage — Pear tree slug (*Eriocampa cerase*) — Pea blight — Spring canker worm (*Paleacrita vernata*) — Red legged grasshopper (*Melanoplus femur-rubrum*) — Tussock moth (*Orgyia leucostigma*). (22. annual rep. of the Ontario agricult. college etc. Toronto 1897. p. 7—20.)
- , Report of committee on economic botany and entomology. (The worst insects reported — New insects likely to be injurious — Replies regarding the increase or decrease of the horn fly — Prevalence of the Buffalo carpet beetle [*Anthrenus scrophulariae*] — To what extent spraying is followed and with what results?). (22. annual rep. of the Ontario agricult. college etc. Toronto 1897. p. 237—238.)
- Peglion, V.**, Eine neue Krankheit des Hanfes (*Bacteriosis des Stengels*). (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 2. p. 81—84.)
- Pizzigoni, A.**, *Cancrena secca* ed *umida* delle patate. (Nuovo giorn. botan. ital. 1896. p. 50—53.)
- Prillieux, E.**, Maladies des plantes agricoles et des arbres fruitiers et forestiers causées par des parasites végétaux. T. II. 1 vol. 8<sup>o</sup>. Paris (Firmin-Didot & Cie.) 1897. 6 fr.
- Ráthy, E.**, Der zweite Black-Rot-Kongreß in Bordeaux im Jahre 1896. (Weinlaube. 1897. No. 3. p. 25—27.)
- Ravas, L. et Gouirand, G.**, Recherches sur le traitement des maladies de la vigne. Le black rot. (Rev. de viticulture. 1897. No. 170, 171. p. 305—313, 338—340.)
- Report of the Phylloxera commission of Cape Colony for 1895. (Agl. Journ. of Cape Colony. 1896. No. 5. p. 106—108.)
- Robertson, D.**, Insect pests of conifers. (Gard. chron. 1896. No. 486. p. 486—487.)
- Schöyen, W. M.**, On potato rot and its prevention, especially by copper fungicides. (Tidskr. norske landbr. 1896. No. 3. p. 1—21.)
- Solla, E.**, Enumerazione di casi patologici osservati nella foresta di Vallombrosa. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. No. 8. p. 269—278.)
- Soppitt, E. T.**, Bemerkungen über *Puccinia Diagraphidis* Soppitt. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 1. p. 8—10.)
- Sorauer, F.**, Bericht über eine mit Unterstützung des Kgl. preuß. landwirtschaftl. Ministeriums unternommene Umfrage betrefß der im Jahre 1894 durch Krankheiten und Feinde in Preußen verursachten Ernteschädigungen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 2, 4, 5, 6. p. 83—89, 210—225, 277—285, 338—342.)
- , Feldversuche mit Rüben, welche an der bakteriösen Gummosis leiden. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 2. p. 77—80.)

- Starbäck, K.**, Om sjukdomar hos sädeslag och andra kulturväxter förorsakade af parasit-svampar. 8°. 48 p. Stockholm (Bonnier) 1897. 35 ö.
- Stone, G. E.**, *Asparagus rust*. (Garden and forest. 1896. p. 426.)
- v. Tubenif, C.**, Diseases of plants, induced by cryptogamic parasites. Introduction to the study of pathogenic fungi, slime fungi, bacteria and algae. Transl. by Wm. G. Smith. 8°. 598 p. 330 illustr. London (Longmans) 1897. 18 sh.
- Udale, J.**, Gardening for all: A handbook on growing vegetables and fruit, and the prevention and destruction of insect pests of the garden, and selections of window plants and hardy flowers. Introduction by Cobham. 8°. 154 p. London (Simpkin) 1897. 1 sh.
- Vermorel, V.**, Les ennemis de la betterave. Destruction du silphe opaque et des vers blancs. 8°. 71 p. avec fig. Paris (Michelet) 1897. 1 fr.
- Vogline, P.**, Prima contribuzione allo studio della flora micologica del Canton Ticino. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. p. 34.)
- Vuillemin, P.**, Le Cladochytrium pulposum parasite des betteraves. (Bullett. de la soc. botan. de France. 1896. No. 8. p. 497—505.)
- Wakker, J. H.**, De oogvlekkenziekte der bladscheeden veroorzaakt door *Cercospora vaginæ*. (Mededeel. v. h. proefstat. Oost-Java. N. S. 1897. No. 26.) 8°. 14 p.
- , De Sereh-Ziekte. (Mededeel. v. h. proefstat. Oost-Java. N. S. 1897. No. 35.) 8°. 69 p. Soerabaia (van Ingen) 1897.
- , De ziekte der kweekbeddingen en het plotseling doodgaan van het riet in snijtuinen veroorzaakt door *Marasmius sacchari*. (Mededeel. v. h. proefstat. Oost-Java. 1897. No. 16.) 8°. 15 p.
- Wakker, J. H. en Moquette, J. P.**, De wortelschimmels van suikerriet. IV. (Mededeel. v. h. proefstat. Oost-Java. N. S. 1897. No. 34. p. 1—5.) — Sep.-Abdr. a. Archief voor de Java-suikerindustrie. 1897. afl. 2.) Soerabaia (H. van Ingen) 1897.
- Willot, Ueber** Nematodenvernichtung. (Sucr. indigène. 1897. No. 49. p. 13. — Chemiker-Ztg. 1897. No. 6. p. 46.)
- Zehntner, L.**, De plantenluizen van het suikerriet op Java. I. *Aleurodes Bergi* Signoret. Overg. (Arch. v. d. Java-Suikerind. 1896. Afl. 19.) 8°. 13 p. Soerabaia 1897.
- , De bestrijding der boorders. 6 p. Soerabaia 1896.
- Zupnik, L.**, Ueber die praktische Verwendbarkeit der Mäusebacillen, insbesondere des Loeffler'schen *Bac. typhi murium*. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 11/12. p. 446—459.)

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.

- Freudenreich, Ed. v.**, Ueber die Erreger der Reifung bei dem Emmenthalerkäse. II. (Orig.), p. 349.
- Seifert, W.**, Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Essigsäurebakterien. (Orig.), p. 337.
- Stutzer, A. u. Hartleb, R.**, Der Salpeterpilz. (Orig.) [Forts.], p. 351.

### Zusammenfassende Uebersichten.

- Behrens, J.**, Die Reihefe in der Weinbereitung. (Orig.), p. 354.

### Referate.

- Berger, M. H.**, Ueber das gleichzeitige Auftreten von *Uromyces Betæ* und *Phoma Betæ*, p. 377.
- Bokorny, Th.**, Ueber die Kohlenstoffernährung der Sproßhefe, p. 372.
- , Die organische Nahrung der Bakterien und Hefezellen; Beziehung der

Nährkraft zur chemischen Konstitution, p. 373.

**Fischer, Ed.**, Observations sur les Urédinées, p. 377.

**Lohmann, W.**, Ueber den Einfluß des intensiven Lichtes auf die Zellteilung bei *Saccharomyces cerevisiæ* und anderen Hefen, p. 369.

**Mörner, Carl Th.**, Ueber ein eigentümliches Nahrungsmittel nebst einigen Beobachtungen über darin angetroffene Fäulnisbasen, p. 374.

**Nijpels, Paul**, Les champignons nuisibles aux plantes cultivées et les moyens de les combattre, p. 375.

### Entwicklungshemmung u. Vernichtung der Bakterien etc.

- Blum, J.**, Die konservierenden Eigenschaften des Formalin (Formol), p. 378.
- Sajó, Carl**, Die Spargelfliegen, p. 379.

Neue Litteratur, p. 380.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel**

und

**Prof. Dr. J. H. Vogel in Berlin.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 18. August 1897.**

**No. 15/16.**

---

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

## **Original-Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Essig- säurebakterien.**

[Aus dem gärungsphysiologischen Laboratorium der k. k. chemisch-  
physiologischen Versuchsstation für Wein- und Obstbau  
in Klosterneuburg bei Wien.]

Von

**W. Seifert,**

Adjunkt an der k. k. Versuchsstation in Klosterneuburg.

(Schluß.)

Es ergibt sich hieraus die Thatsache, daß auch Isobutyl-  
alkohol durch *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum*  
in die entsprechende Säure übergeführt werden kann,  
jedoch unter der Voraussetzung, daß das Nährsubstrat für die Ent-

wicklung der Bakterien ein günstiges ist. Je größere Anforderungen an die Widerstandsfähigkeit und Arbeitsleistung der Bakterien gestellt werden, desto mehr scheinen sich die Ansprüche derselben an die Qualität des Nährbodens zu steigern. Brown giebt für sein *Bacterium aceti* an, daß es auf Isobutylalkohol keine Wirkung äußere; da er aber als Nährlösung Hefedekokt verwendete, so ist es nicht unwahrscheinlich, daß seinem Bakterium unter günstigeren Entwicklungsbedingungen trotzdem die Eigenschaft einer Oxydationswirkung auf Isobutylalkohol zukommt.

Der Oxydationsprozeß läßt sich ausdrücken durch die Gleichung:  

$$(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH}_2(\text{OH}) + 2\text{O} = (\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{COOH} + \text{H}_2\text{O}$$

Ein weiterer Versuch ging dahin, das Verhalten von *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* gegen Amylalkohol (Gärungsamylalkohol) festzustellen. Verwendet wurden für jedes Bakterium 200 ccm Hefedekokt mit 2 ccm Amylalkohol. Bei *B. Pasteurianum* war das Resultat ein vollkommen negatives, indem selbst nach 5 Wochen kein Wachstum, somit auch keine Veränderung zu beobachten war. Etwas anders verhielt sich *B. Kützingianum*. Nach ca. 8 Tagen hatte dasselbe eine deutliche Membran auf der amyalkoholhaltigen Nährlösung gebildet; dieselbe wurde nach 5-wöchentlichem Stehen auf ihren Säuregehalt untersucht. Derselbe betrug für 100 ccm 0,072 g (als Essigsäure berechnet). Von der näheren Untersuchung dieser Säure mußte selbstverständlich Abstand genommen werden, nachdem die Menge derselben viel zu gering war; es blieb daher immer noch sehr fraglich, ob der Amylalkohol überhaupt einer Oxydationsgärung fähig ist und ob diese geringe Säurebildung nicht etwa auf eine Unreinigkeit des Amylalkohols zurückzuführen ist, zumal auch Brown bei *B. aceti* ein negatives Resultat erhielt. Eine für späterhin vorbehaltene Untersuchung soll darüber entscheiden.

## 7. Einwirkung auf Aethylenglycol.

Um bei etwaiger Säurebildung die Menge der Säure ermitteln zu können, wurden zunächst je 200 ccm Hefedekokt mit 1 ccm Aethylen-glycol versetzt und sodann die Bakterienaussaat vorgenommen.

In beiden Versuchen trat eine wenn auch langsame Vermehrung der Bakterien ein, bis sich schließlich auf der Oberfläche der Nährlösungen zarte Membranen gebildet hatten. Die Kölbchen wurden nach 10 Wochen geöffnet und die Säurezunahme durch Titration mit  $\frac{1}{10}$  Normal-Kali ermittelt.

Bei *B. Pasteurianum* erforderten 10 ccm der Versuchsflüssigkeit 0,65 ccm  $\frac{1}{10}$  N-Kali; dem entsprechen 0,039 g Säure (als Essigsäure berechnet) in 100 ccm;

bei *B. Kützingianum* erforderten 10 ccm der Versuchsflüssigkeit 1,50 ccm  $\frac{1}{10}$  N-Kali, welchem 0,090 g Säure in 100 ccm entsprechen.

Die gebildete Säuremenge war daher verhältnismäßig sehr klein und dürfte auch für diese beiden Bakterienarten dasselbe gelten, was Brown bei seinem Essigbakterium beobachtet hatte, nämlich, daß die bei der Oxydation des Aethylenglycols entstehende Säure selbst auf die Entwicklung und dementsprechend auch auf die physiologische

Thätigkeit der Essigbakterien hemmend einwirkt. Um diese schädliche Beeinflussung zu verhindern, wurde der Versuch neuerdings aufgestellt, jedoch mit der Abänderung, daß je 400 ccm Hefedekokt mit 8 g reinem Calciumcarbonat und 4 ccm Aethylenglycol versetzt wurden. Nach Aussaat der Bakterien blieben die Kolben gleichfalls 10 Wochen lang stehen, während welcher Zeit sich die beiden Bakterienarten ziemlich lebhaft entwickelten. Sodann wurden die beiden Versuchsfüssigkeiten jede für sich filtriert, am Wasserbade bis auf ein kleines Volumen eingedampft und mit 96-proz. Weingeist im Ueberschuß versetzt. Dabei schied sich eine körnige weiße Masse aus, welche am Filter gesammelt und mit 70-proz. Weingeist gewaschen wurde; die fast reinweiße Masse bräunte sich schwach beim Trocknen bei 100° C, war daher offenbar mit anderen leicht versetzlichen organischen Substanzen verunreinigt. Behufs weiterer Reinigung wurde die Masse im Wasser warm gelöst, filtriert und das Filtrat so lange mit Alkohol versetzt bis eine leichte Trübung entstand. Nach längerem Stehen an einem kühlen Orte bildete sich ein rein weißer, makroskopisch schon krystallisiert aussehender Niederschlag, welcher unter dem Mikroskop aus strahlig angeordneten Büscheln nadelförmiger Krystalle bestand. Die Krystallmasse wurde abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und bei 115° getrocknet.

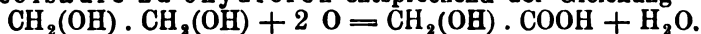
Die Bestimmung der an Kalk gebundenen Säure geschah durch die Ermittlung des Kalkgehaltes und zwar wurde das Salz mittelst Schwefelsäure in Calciumsulfat übergeführt und als solches gewogen. Hierbei wurde in derselben Weise vorgegangen wie bei der Analyse der Barytsalze,

0,2980 g Substanz gaben 0,2087 g Calciumsulfat; letzteres entspricht 0,0613 g Ca oder  
in 100 Teilen

Gefunden für  $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$  berechnet  
Ca . . . . . 20,57 21,05

Für *B. Pasteurianum* konnte die Analyse des Kalksalzes leider nicht vorgenommen werden, da dasselbe während der Präparation verunglückte, doch ist es wohl nach dem ganzen Verhalten und dem Aussehen desselben unzweifelhaft, daß dasselbe Salz gebildet worden war, wie bei *B. Kützingianum*.

Es kommt demnach, so wie dem *B. aceti* Brown, auch diesen beiden Bakterienarten die Fähigkeit zu, Aethylenglycol zu Glycolsäure zu oxydieren entsprechend der Gleichung



#### 8. Einwirkung auf Glycerin.

Verwendet wurde zu diesem Versuch chemisch-reines Glycerin von der Firma F. A. Sarg's Sohn & Comp. in Wien; dasselbe ging bei niedriger Temperatur in den krystallinischen Zustand über. 500 ccm Hefedekokt erhielten einen Zusatz von 12 g Glycerin und wurden vorläufig nur mit *B. Pasteurianum* infiziert. Nach Brown soll die Wirkung des *B. aceti* auf Glycerin darin bestehen, daß letzteres zu Kohlensäure und Wasser oxydiert wird. Nebenbei will Brown eine schwache Säurebildung beobachtet haben, welche näher zu be-

stimmen ihm jedoch wegen der geringen Menge unmöglich war; da er schließlich angibt, daß die Säure möglicherweise auf eine Unreinigkeit des angewendeten Glycerins zurückzuführen sein dürfte, so wurde auf dieselbe bei den folgenden Untersuchungen keine Rücksicht genommen.

Es kam daher vorzugsweise darauf an, den Gehalt der Versuchsfüssigkeiten an Glycerin vor und nach der Einwirkung der Essigsäurebakterien möglichst genau zu bestimmen, um ein etwaige Abnahme desselben feststellen zu können.

Die Glycerienbestimmungen wurden daher stets in der gleichen Weise vorgenommen und zwar nach der bei der Weinanalyse üblichen Methode<sup>1)</sup>.

Diese ergab vor der Einwirkung von *B. Pasteurianum*  
in 100 ccm der Versuchsfüssigkeit 2,32 g  
oder für 500 ccm berechnet . . . . . 11,6 g Glycerin.

Nachdem sich *B. Pasteurianum* anfangs sehr stark vermehrt und auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine Membran gebildet hatte, wurde nach Verlauf von 6 Wochen der Versuch unterbrochen und das Glycerin neuerdings bestimmt.

In 100 ccm wurden jetzt 2,26 g oder für 500 ccm 11,3 g Glycerin gefunden.

Es hatte demnach nur eine unbedeutende Abnahme des Glycerins und zwar um 0,06 g in 100 ccm stattgefunden.

Um nun dem etwaigen Einwurf zu begegnen, daß nach der Annahme von A. d. Brown die geringe Menge der gleichzeitig gebildeten Säure das Essigsäurebakterium in seiner weiteren chemischen Wirkung auf das Glycerin gehindert habe, wurde bei einem zweiten Versuch dem Hefedekokt Calciumcarbonat zugesetzt, um die Säure sofort zu binden. Sonach wurden 400 ccm Hefedekokt mit 8 g Calciumcarbonat und 8 g Glycerin versetzt, sodann sterilisiert und danach das Glycerin 2 mal in je 50 ccm bestimmt.

In beiden Fällen wurden in 50 ccm 1,02 g Glycerin gefunden, welche 2,04 g für 100 ccm entsprechen.

In der so bereiteten Versuchsfüssigkeit konnte jedoch weder bei *B. Pasteurianum* noch bei *B. Kützingianum* ein rascheres oder üppigeres Wachstum als bei dem vorhergehenden Versuch beobachtet werden, wie es Brown für sein Essigbakterium angibt.

Nachdem die Glycerinnährlösungen 10 Wochen lang der Einwirkung der Bakterien überlassen worden waren, wurde die Glycerinbestimmung abermals vorgenommen.

Für *B. Pasteurianum* wurden nun in 100 ccm der Versuchs-

1) Der Vorgang war folgender: 50 ccm der bereits sterilisierten Flüssigkeit wurden bis auf ca. 5 ccm am Wasserbade eingedampft und mit 1 g Aetskalk versetzt; die breiige Masse wurde sodann dreimal mit je 50 ccm 90-proz. Alkohols einige Minuten lang gekocht, die Lösung filtriert, der Rückstand am Filter mit heißem Alkohol wiederholt ausgewaschen und das alkoholische Filtrat destilliert. Nachdem der Destillationsrückstand mit 20 ccm absoluten Alkohols und 30 ccm Aether versetzt worden und bis zur vollständigen Klärung stehen geblieben war, wurde die Alkohol-Aetherlösung in ein gewogenes weithalsiges Körbchen filtriert, mit der gleichen Alkohol-Aethermischung nachgewaschen, durch 3 Stunden bei 100° im Wassertrockenschrank getrocknet und alsdann gewogen.

flüssigkeit 1,90 g Glycerin gefunden, was einer Verminderung des Glyceringehaltes um 0,13 g gleichkommt, während bei *B. Kützingianum* noch 1,83 g Glycerin in 100 ccm enthalten waren, demnach eine Verminderung um 0,21 g stattgefunden hatte.

Zieht man in Betracht, daß das Brown'sche *B. aceti* innerhalb 9 Wochen 10 g Glycerin in 400 ccm Hefedekokt unter sonst gleichen Verhältnissen vollständig zum Verschwinden gebracht haben soll, so kommt im Vergleich damit sowohl dem *B. Pasteurianum* als auch dem *B. Kützingianum* nur eine geringe Oxydationskraft dem Glycerin gegenüber zu.

### 9. Einwirkung auf Mannit.

Adr. Brown hatte, wie bereits in der Einleitung bemerkt wurde, gefunden, daß sein *B. aceti* Mannit in Lävulose verwandelt; es galt daher zu prüfen, ob auch *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* die gleiche Eigenschaft besitzen. Zu diesem Behufe erhielten je 500 ccm Hefedekokt einen Zusatz von 15 g Mannit; die vollkommen sterilen Nährlösungen wurden in der gewöhnlichen Weise mit den beiden Bakterienarten infiziert. Dieselben brachten schon nach 48 Stunden eine starke Trübung der Flüssigkeit hervor, die Vermehrung ging also sehr rasch von statten. Bei *B. Pasteurianum* waren die Kettenverbände nach 5 Wochen meist zerfallen, auch die Fadenform war selten; die Blaufärbung mit Jod trat nach dieser Zeit weder bei der einen noch bei der anderen Bakterienart ein. Die filtrierte Versuchsflüssigkeit wurde nun in chemischer Hinsicht untersucht, um eine etwaige Veränderung des Mannit zu konstatieren. Die ursprünglich neutrale Versuchsflüssigkeit war auch nach 5-wöchentlicher Einwirkung der Essigsäurebakterien neutral geblieben; gegenüber 5-fach verdünnter Fehling'scher Lösung zeigte sie nur eine äußerst schwache Reduktionsfähigkeit während auch das optische Drehungsvermögen gleich Null war. Um die Anwesenheit aktiven Zuckers mit größerer Sicherheit, als er in der großen Verdünnung möglich war, nachweisen zu können, wurde jede Versuchsflüssigkeit für sich am Wasserbade bei 70° C vorsichtig bis zur Syrupkonsistenz eingedampft, dann mit heißem 95-proz. Alkohol zu wiederholten Malen extrahiert, die Lösung nach dem Erkalten vom ausgeschiedenen Mannit abfiltriert, sodann 24 Stunden lang ruhig stehen gelassen. Nachdem der neuerdings ausgeschiedene Mannit abfiltriert und der Alkohol verdampft worden war, wurde der Rückstand in 50 ccm Wasser gelöst, die Lösung mit reiner Blutkohle entfärbt und polarisiert; sie zeigte sich bei *B. Pasteurianum* abermals optisch inaktiv, mit verdünnter Fehling'scher Lösung fand wiederum eine nur sehr schwache Reduktion statt.

Etwas anders verhielt es sich bei *B. Kützingianum*. Der in 50 ccm Wasser gelöste und mit Blutkohle entfärbte Rückstand reduzierte verdünnte Fehling'sche Lösung bedeutend stärker als im vorhergehenden Falle und gab mit Resorcin und Salzsäure die Reaktion auf Lävulose. Die optische Drehung betrug im 200 mm-Rohr  $-0,2^{\circ}$  Wild. Die quantitative Bestimmung der reduzierenden Substanz ergab, soweit dieselbe bei der geringen Menge des Untersuchungsmaterials überhaupt ein zuverlässiges Resultat bieten konnte, für



die gesamte verarbeitete Flüssigkeitsmenge 0,04 g als Lävulose berechnet; danach wären ungefähr 0,26 Proz. der gesamten Mannitmenge in Lävulose verwandelt worden.

Diese Befunde mußten umsomehr überraschen, als es Brown mit seinem *B. aceti* unter denselben Bedingungen gelungen war, fast allen Mannit in Lävulose überzuführen, während *B. Pasteurianum* gar keine, *B. Kützingianum* nur eine unbedeutende Wirkung auf Mannit äußerte. Ein vergleichender Versuch mit dem Brown'schen Bakterium wäre daher sehr wünschenswert gewesen; da mir dasselbe aber nicht zur Verfügung stand, so bediente ich mich des *B. aceti* Hansen.

Es wurde danach ein zweiter Versuch angestellt mit abermals je 500 ccm Versuchsflüssigkeit derselben Zusammensetzung wie beim ersten Versuch und zwar mit *B. aceti* H. und *B. Pasteurianum* als Aussaatmateriale. Beide Bakterien vermehrten sich sehr rasch, irgend welche hervortretende äußere Erscheinungen konnten hierbei nicht wahrgenommen werden. Nach 6-wöchentlicher Einwirkung wurden die Nährlösungen filtriert und mit Fehling'scher Lösung auf ihre Reduktionsfähigkeit geprüft.

Die mit *B. aceti* infizierte Mannitlösung reduzierte jetzt Fehling'sche Lösung sehr stark, die mit *B. Pasteurianum* infizierte dagegen gar nicht. Bezüglich des optischen Verhaltens zeigte erstere im 200 mm-Rohr des Wild'schen Polaristrobometers eine Drehung von  $-0,5^\circ$ . Die Bestimmung der reduzierenden Substanz erfolgte maßanalytisch mit 5-fach verdünnter Fehling'scher Lösung; danach enthielten 500 ccm der Versuchsflüssigkeit 0,93 g als Lävulose berechnet, welche 6,2 Proz. des vorhandenen Mannit entsprechen. Um eine möglichst reine und konzentriertere Lösung dieser reduzierenden Substanz herzustellen, wurde die übrige Versuchsflüssigkeit nach dem bereits oben beschriebenen Vorgang bei  $70^\circ$  eingengt, mittelst Alkohol vom Mannit befreit, der erhaltene bräunliche Syrup in 50 ccm Wasser aufgenommen, entfärbt und im 200 mm-Rohr die optische Drehung ermittelt; dieselbe betrug jetzt  $-1,8^\circ$  Wild. Mit Salzsäure und Resorcin trat die für Lävulose charakteristische Rotfärbung ein. Es war demnach wohl kein Zweifel, daß die aus Mannit gebildete Substanz aus Lävulose bestand, die sich nach folgender Gleichung gebildet hatte:

$$\text{CH}_2(\text{OH}) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_2(\text{OH}) + \text{O} = \text{CH}_2(\text{OH}) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_2(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}.$$

Obwohl nun *B. aceti* H. bezüglich der Oxydationswirkung auf Mannit dem Brown'schen Bakterium gegenüber noch erheblich zurückzustehen scheint, so tritt doch der Unterschied in dem physiologischen Verhalten zwischen *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* einerseits und *B. aceti* H. anderseits sehr deutlich hervor. Schon gegenüber dem dreiwertigen Alkohol, dem Glycerin, haben die beiden erstgenannten Bakterien eine sehr geringe Oxydationskraft gezeigt, dieselbe schwindet fast gänzlich gegenüber dem sechswertigen Alkohol, dem Mannit.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, wie sich diese Bakterien gegenüber den mit dem Mannit stereoisomeren Alkoholen verhalten. Den Gegenstand der folgenden Versuche bildete daher die

### 10. Einwirkung auf Sorbit und Dulcit.

Bertrand hatte, wie bereits erwähnt wurde, die Umwandlung von Sorbit in eine linksdrehende Zuckerart, Sorbose oder Sorbinose genannt, durch ein dem *B. xylinum* Brown sehr nahestehendes Bakterium in jüngster Zeit festgestellt. Da es mir vor einiger Zeit gelungen war, im essigstichig gewordenen Wein ein Bakterium zu finden, welches bezüglich seiner Eigenschaften mit dem von Brown beschriebenen *Bacterium xylinum* übereinstimmt, so wurde auch dieses zum Vergleich mit in den Versuch einbezogen; ich bezeichne es kurzweg als *B. xylinum*. Zu diesem Behufe wurden zunächst 4 Kölbchen mit je 100 ccm Hefedekokt, welche je 1 g Sorbit zugesetzt erhalten hatten, nach der Sterilisation mit *B. aceti* H., *B. Pasteurianum*, *B. Kützingianum* und *B. xylinum* infiziert. In allen 4 Kölbchen fand eine lebhafte Vermehrung der Bakterien statt. Nach Ablauf von 4 Wochen wurden die Kölbchen geöffnet, die Flüssigkeiten filtriert und dieselben sowohl auf ihr Verhalten gegen Fehling'sche Lösung und auf etwaige Säurebildung als auch bezüglich ihres optischen Drehungsvermögens geprüft. Dabei ergab sich folgendes:

Die mit *B. xylinum* infizierte Versuchsflüssigkeit reduzierte stark Fehling'sche Lösung und zeigte im 200 mm-Rohr eine Drehung von  $-0,6^{\circ}$  Wild; die maßanalytische Bestimmung der reduzierenden Substanz ergab für 100 ccm 0,50 g als Dextrose bezeichnet. Dagegen wurde sowohl bei *B. aceti*, als auch bei *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* ein vollständig negatives Resultat erhalten.

Säurebildung hatte in keinem Falle stattgefunden.

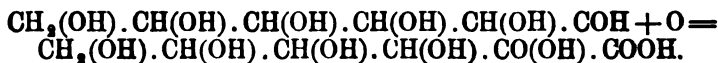
Bei der geringen Menge der reduzierenden, optisch aktiven Substanz, welche durch die Einwirkung von *B. xylinum* auf Sorbit erhalten wurde, war es allerdings nicht möglich, eine eingehendere Untersuchung derselben vorzunehmen, um die Identität derselben mit Sorbose festzustellen, doch dürfte es sich hier kaum um einen anderen Körper handeln. Was aber als das Wichtigste erscheint, ist der Umstand, daß nur dem *B. xylinum* allein unter den angegebenen Verhältnissen eine oxydierende Wirkung auf Sorbit zukommt.

Der Versuch, welcher zur Aufgabe hatte, das Verhalten derselben vier Bakterienarten zu Dulcit zu prüfen, wurde in analoger Weise ausgeführt, wie jener mit Mannit.

Das Resultat war für alle vier Bakterienarten ein vollkommen negatives, dieselben haben keine Einwirkung auf diesen dem Mannit und Sorbit stereoisomeren Alkohol.

### 11. Einwirkung auf Glykose.

Adr. Brown, welcher die Angaben Boutroux über die Oxydation der Glykose zu Glukonsäure durch „*Mycoderma aceti*“ mit seinem *B. aceti* einer Nachprüfung unterzog und dieselben bestätigt fand, hält diese Eigenschaft der Glykose als einen neuerlichen Beweis für den Aldehydcharakter dieser Zuckerart; er veranschaulicht diesen Prozeß durch die Gleichung:



Nach ihm ist Glykonsäure das einzige Produkt der oxydierenden Wirkung des *B. aceti* auf Glykose.

Es galt hier nun die Frage, ob auch dem *B. Pasteurianum* und dem *B. Kützingianum* die gleiche Eigenschaft der Glykose gegenüber zukommt.

Behufs vorläufiger Prüfung auf etwaige Säurebildung in Glykose-lösung wurden für jedes Bakterium 500 ccm Hefedekokt mit 15 g chemisch reiner Glykose versetzt, sterilisiert und wie gewöhnlich mit den genannten Bakterien infiziert. Bereits am 2. Tage hatten sich die Versuchsfüssigkeiten stark getrübt und waren an der Oberfläche zarte Membranen gebildet worden. Nach 5 Wochen hatten sich die Bakterien größtenteils zu Boden gesenkt, die Flüssigkeit war wieder klar, nur eine äußerst zarte Membran war erhalten geblieben. Die Flaschen wurden nun geöffnet; bei *B. Pasteurianum* waren die Individuen meist zu langen Ketten vereinigt, mit Jod trat Blaufärbung ein. Die Flüssigkeit selbst reagierte jetzt sauer, und zwar erforderten 25 ccm derselben 5,2 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normal-Kali.

Bei *B. Kützingianum* waren die Individuen meist einzeln oder zu zweien verbunden; die Membran zeigte unter dem Mikroskop noch teilweise Blaufärbung. Die Flüssigkeit reagierte gleichfalls sauer und zwar erforderten 25 ccm derselben 13,2 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normal-Kali.

Angenommen, daß die gebildete Säure thatsächlich Glukonsäure war, so würden sich im ersteren Falle aus 15 g Glykose 2,038 g, im letzteren Falle 5,174 g Glukonsäure gebildet haben. Um nun die Identität dieser Säure mit Glukonsäure nachzuweisen, wurde ein 2. Versuch angestellt, jedoch in der Weise, daß dem Glykose-Hefedekokt reines Calciumcarbonat zugefügt wurde; dieser Zusatz geschah einerseits, um die gebildete Säure sofort zu binden und so das Kalksalz zu bilden, andererseits, um die Ausbeute an Glukonsäure zu erhöhen, nachdem Brown beobachtet hatte, daß bei Anwesenheit von ungefähr 0,4 Proz. der Säure (als Essigsäure berechnet) die weitere Wirkung der Essigsäurebakterien sich sehr vergrößert. Dieses geht auch aus den oben angeführten Zahlen hervor, welche, auf Essigsäure bezogen, noch nicht einmal diesen Prozentsatz erreichen; bei *B. Pasteurianum* war danach die Verzögerung mindestens schon bei 0,12 Proz., bei *B. Kützingianum* bei 0,29 Proz. eingetreten.

Es wurden daher 4 Flaschen mit je 500 ccm Hefedekokt, 15 g Glykose und 5 g Calciumcarbonat versetzt, sterilisiert und sodann die Versuchsfüssigkeiten in 2 Flaschen mit *B. Pasteurianum*, in den anderen 2 Flaschen mit *B. Kützingianum* infiziert. In beiden Fällen hatte sich binnen wenigen Tagen eine ansehnliche Membran gebildet; nach 8 Wochen wurde der Versuch unterbrochen und zunächst die Bakterienkulturen einer mikroskopischen Untersuchung unterzogen. *B. Pasteurianum* befand sich zumeist noch in langen, kettenartigen Verbänden, Involutionsformen waren nicht vorhanden, auch die Fadenform fehlte gänzlich. Mit Jod trat noch teilweise Blaufärbung ein. Die Zellen von *B. Kützingianum* befanden sich

nur vereinzelt oder paarweise vereint, Fäden sowie ausgebauchte Formen fehlten gleichfalls. Mit Jod trat intensive Blaufärbung ein.

Behufs Gewinnung resp. Reindarstellung des Calciumsalzes wurden die Versuchsfüssigkeiten filtriert, am Wasserbade eingengt und die konzentrierte Lösung mit einer überschüssigen Menge Alkohol versetzt. Dabei schied sich eine gummiartige, zähe, bräunliche Masse aus. Nach 24-stündigem Stehen hatte sich die Flüssigkeit geklärt; sie wurde abgegossen, die bräunliche, zähflüssige Ausscheidung in etwas Wasser gelöst, die Lösung mit reiner Blutkohle entfärbt und das nahezu farblose Filtrat neuerdings mit 90-proz. Alkohol im Ueberschuß versetzt. Jetzt fiel ein reichlicher weißer, flockiger Niederschlag aus, der unter dem Mikroskop größtenteils aus kleinen, nadelförmigen Krystallen bestand. Nach abermaligem 24-stündigem Stehen wurde die klare Flüssigkeit vom Niederschlag abgegossen, letzterer in heißem Wasser gelöst und die noch heiße Flüssigkeit mit kochendem Alkohol bis zur eintretenden schwachen Trübung versetzt. Beim allmählichen Auskühlen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur hatte sich nach 2 Tagen eine rein weiße, krystallinische Masse ausgeschieden; dieselbe wurde am Filter gesammelt, mit 50-proz. Alkohol gewaschen und anfangs bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, nachher bei 100° C getrocknet. Die Ausbeute fiel für *B. Kützingianum* etwas reichlicher aus, als bei *B. Pasteurianum*, nachdem bei ersterem nahezu die doppelte Menge des Calciumsalzes gewonnen wurde.

Die Analyse des Kalksalzes erfolgte in der Weise, daß dasselbe mittels Schwefelsäure in Calciumsulfat übergeführt und als solches gewogen wurde.

Bei *B. Pasteurianum* gaben 1,0974 g Substanz 0,3330 g Calciumsulfat, welche 0,0979 g Ca entsprechen; demnach wurden in 100 Teilen

Gefunden für  $\text{Ca}(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7)_2 + \text{H}_2\text{O}$  berechnet  
 Ca . . . . . 8,92 8,92

Bei *B. Kützingianum* gaben 0,7178 g Substanz 0,2150 g Calciumsulfat, welche 0,0632 g Ca entsprechen; demnach wurden in 100 Teilen

Gefunden für  $\text{Ca}(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7)_2 + \text{H}_2\text{O}$  berechnet  
 Ca . . . . . 8,80 8,92

Die für Ca gefundenen Werte stimmen sehr gut für das Kalksalz mit 1 Mol. Krystallwasser; nach Herzfeld (s. Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. CCXX. p. 344) enthält das aus verdünntem Alkohol auskrystallisierende Kalksalz 1 Mol. Krystallwasser und verliert dasselbe erst bei 125–130° C, bei welcher Temperatur gleichzeitig Bräunung und Zersetzung der Substanz eintritt.

Es geht daraus hervor, daß auch *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* mit Leichtigkeit, allerdings etwas weniger energisch als das Brown'sche *B. aceti*, Glykose zu Glukonsäure oxydieren, daß aber auch hier *B. Pasteurianum* gegen *B. Kützingianum* bezüglich der Oxydationskraft zurücksteht.

## 12. Einwirkung auf Lävulose.

Ein in ähnlicher Weise durchgeführter Versuch wie der vorhergehende, bei welchem anstatt Glykose Lävulose in Anwendung kam, ergab insofern ein negatives Resultat, als eine Veränderung der Lävulose durch die Einwirkung der beiden Bakterienarten nicht zu konstatieren war; es zeigte sich also, daß, so wie das *B. aceti* Brown, auch *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* gegen Lävulose, welche Ketoncharakter besitzt, chemisch unwirksam sind.

Das gleiche Verhalten wurde gegenüber Maltose beobachtet.

## 13. Einwirkung auf Fettsäuren.

Bereits Pasteur hatte konstatiert, daß durch „*Mycoderma aceti*“ Essigsäure schließlich zu Kohlensäure und Wasser verbrannt wird. In neuerer Zeit hat dies F. Lafar<sup>1)</sup> speziell für *B. Pasteurianum* festgestellt. Es war nun interessant, im Wege des Experimentes einerseits zu erfahren, wie sich in dieser Beziehung *B. Pasteurianum* im Vergleich zu *B. Kützingianum* verhält, andererseits, welche Wirksamkeit diesen Bakterien auf die nächst höheren Homologen der Essigsäure zukommt.

Zunächst wurde

### A. Die Einwirkung auf Essigsäure

einer näheren Prüfung unterzogen.

Behufs dessen wurden für jedes Bakterium je 200 ccm Hefedekokt mit 1 ccm konzentrierter Essigsäure versetzt, sterilisiert, sodann mit der nötigen Vorsicht demselben 10 ccm entnommen und darin der Säuregehalt mit  $\frac{1}{10}$ -Normal-Kali bestimmt.

In beiden Fällen enthielt die Versuchsflüssigkeit in 100 ccm 0,402 g Essigsäure. Nach vollzogener Aussaat, welche auch diesmal mit einer kleinen Platinöse erfolgte, wurden die Kölbchen 10 Wochen lang stehen gelassen; während dieser Zeit hatte sich auf der Oberfläche der Flüssigkeiten eine dichte Bakterienhaut gebildet. Bei der Untersuchung der Verflüssigkeiten ergab sich, daß alle Säure verschwunden war; sowohl *B. Pasteurianum* als auch *B. Kützingianum* hatten dieselbe vollständig aufgebraucht. Die Eigenschaft, Essigsäure zu Kohlensäure und Wasser zu verbrennen, kommt demnach auch dem *B. Kützingianum* zu; ob mit derselben oder noch größerer Energie, ist durch diese Versuche vorläufig noch nicht festgestellt worden. Der nächste Versuch galt der

### B. Einwirkung auf Propionsäure.

Je 200 ccm Hefedekokt wurden mit 1 ccm Propionsäure versetzt und nach demselben Vorgang wie im vorhergehenden Versuche zunächst der Säuregehalt ermittelt; derselbe betrug in 100 ccm 0,466 g Propionsäure. 10 Wochen nach erfolgter Aussaat war je-

1) F. Lafar, Physiolog. Studien über Essiggärung und Schnellessigfabrikation. II. Abh. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. 1895. p. 186.)

doch in keinem Falle eine Vermehrung der Bakterien eingetreten. Die nun erfolgte Säurebestimmung ergab sogar einen etwas höheren Säuregehalt, und zwar enthielt die mit *B. Pasteurianum* infizierte Versuchsflüssigkeit in 100 ccm 0,495 g, die mit *B. Kützingianum* infizierte in 100 ccm 0,481 g Propionsäure. Da eine Vermehrung der Bakterien nicht stattgefunden hatte, sonach auch eine Einwirkung auf Propionsäure ausgeschlossen war, so ist diese scheinbare Säurezunahme einzig allein auf die Verdunstung der Flüssigkeit zurückzuführen, durch welche die Säurelösung konzentrierter wurde. Wenn die Säurezunahme nicht in beiden Fällen die gleiche ist, so wird dies durch den Umstand erklärt, daß eben die Verdunstung in desto geringerem oder höherem Grade stattfindet, je nachdem der Watteverschluß ein dichter oder weniger dichter ist.

Da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, daß im vorliegenden Falle Hefedekokt sich als Nährmedium weniger eignete, so wurde ein zweiter Versuch mit je 150 ccm 7-proz. ungehopfter Malzwürze als Nährlösung angestellt. Jede der Versuchsflüssigkeiten enthielt 0,629 g Propionsäure in 100 ccm. Im Laufe von 9 Wochen hatte in beiden Fällen nur eine äußerst geringe Vermehrung der ausgesäten Bakterien stattgefunden, indem dieselbe auf der Oberfläche der Flüssigkeit einige größere Inseln bildeten.

Der Säuregehalt wurde am Schluß der 9. Woche bei *B. Pasteurianum* wiederum höher gefunden, und zwar enthielten 100 ccm jetzt 0,755 g Säure, als Propionsäure berechnet, während bei *B. Kützingianum* der Säuregehalt auf 0,699 g gestiegen war. Es hatte also auch jetzt anstatt einer Säureabnahme eine ziemlich bedeutende Säurezunahme stattgefunden. Dieselbe gestaltet sich jedoch insofern komplizierter, als sie nicht allein auf die Verdunstung der Flüssigkeit, sondern auch darauf zurückzuführen sein dürfte, daß die in der Malzwürze in geringer Menge enthaltene Glykose in Glukonsäure verwandelt wurde; allerdings ist dabei nicht zu ersehen, ob nicht doch gleichzeitig eine geringe Abnahme an Propionsäure stattgefunden hat. Ich muß diese Frage vorläufig noch unbeantwortet lassen, doch hoffe ich, darüber noch entscheidende Untersuchungen durchzuführen; so viel aber ist sicher, daß beide Bakterien in Hefedekokt, also unter Züchtungsverhältnissen, unter denen sie Essigsäure mit Leichtigkeit zu Kohlensäure und Wasser oxydieren, eine ähnliche Wirkung auf Propionsäure bei der angegebenen Konzentration nicht erkennen lassen, daß letztere vielmehr hemmend auf die Entwicklung der Essigbakterien einwirkt. Es entspricht diese Wahrnehmung auch der theoretischen Betrachtung, welche Ad. Mayer<sup>1)</sup> bezüglich der Gärfähigkeit organischer Substanzen angestellt hat und nach welchen alle höheren Fettsäuren von der Propionsäure ab nicht als Gärungsmittel dienen können, „weil hier das Bewegungsmoment zu klein ist im Verhältnis zum Molekül“.

Ein ähnliches Resultat wurde erhalten hinsichtlich der

---

1) Ad. Mayer, Die Gärungschemie als Einleitung in die Technologie der Gärungsgewerbe. p. 209. Heidelberg 1895.

### C. Einwirkung auf normale Buttersäure.

Der Vorgang war derselbe, wie bei den vorhergehenden Versuchen und zwar wurden zunächst je 200 ccm Hefedekokt mit 1 ccm normaler Buttersäure versetzt. Der Säuregehalt betrug in 100 ccm 0,444 g Buttersäure.

Nachdem innerhalb 10 Wochen eine Vermehrung der ausgesäten Bakterien nicht stattgefunden hatte, wurde der Säuregehalt abermals bestimmt; in 100 ccm der mit *B. Pasteurianum* infizierten Versuchsfüssigkeit waren jetzt enthalten 0,441 g, bei *B. Kützingianum* 0,457 g Säure als Buttersäure berechnet. Es war also hier das nämliche eingetreten, was schon bei der Propionsäure beobachtet wurde, der Säuregehalt war weder zurückgegangen, noch hatte überhaupt ein Wachstum der Bakterien stattgefunden, in einem Falle war der Säuregehalt sogar um ein Geringes gestiegen.

Ein gleicher Versuch in Malzwürze ließ eine schwache Vermehrung der Bakterien erkennen, allein der Säuregehalt war auch hier, wohl aus demselben bereits erörterten Grunde, erheblich gestiegen und zwar bei *B. Pasteurianum* von 0,660 g auf 0,748 g, bei *B. Kützingianum* von 0,633 g auf 0,756 g Säure als Buttersäure berechnet.

Demnach sind *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* auch auf Buttersäure bei der angegebenen Concentration ohne Einwirkung.

Faßt man die Resultate der vorstehenden Untersuchungen kurz zusammen, so zeigt sich in Bezug auf die chemische Wirksamkeit der Essigsäurebakterien, besonders des *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* folgendes:

1) Aethyl- und Propylalkohol werden von beiden Bakterienarten in Essigsäure, beziehungsweise in Propionsäure übergeführt; aber auch normaler Butylalkohol und Isobutylalkohol, vermögen durch diese Bakterien oxydiert zu werden, letzterer namentlich dann, wenn günstige Ernährungsbedingungen für die Entwicklung der Essigbakterien vorliegen.

2) Methyl- und Isopropylalkohol werden durch diese Bakterien nicht angegriffen, auch auf Amylalkohol ist *B. Pasteurianum* ohne Einwirkung; bei *B. Kützingianum* erscheint dies vorläufig noch ungewiß.

3) Aethylenglykol wird zu Glykolsäure oxidiert; letztere wirkt entwicklungshemmend auf die Bakterien.

4) Dem Glycerin gegenüber zeigen beide Bakterien im Vergleich zu *B. aceti* Brown nur eine sehr geringe Oxydationskraft.

5) Mannit wird durch *B. Pasteurianum* gar nicht, durch *B. Kützingianum* im Gegensatz zu *B. aceti* Hansen und *B. aceti* Brown nur mit sehr geringer Energie in Lävulose verwandelt.

6) Sorbit wird nur durch *B. xylinum* in Sorbose übergeführt.

7) Auf Dulcit hat keines der hier in Betracht gekommenen Bakterien eine Einwirkung.

8) Glykose wird zu Glukonsäure oxydiert; *B. Kützingianum* scheint auch gegenüber Glykose eine größere Oxydationskraft zu besitzen. Beide Bakterienarten werden durch die entstehende Säure in ihrer Wirksamkeit gehindert.

9) Auf Lävulose und Maltose sind *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* ohne Einwirkung.

10) Essigsäure wird mit Leichtigkeit durch beide Bakterienarten zu Kohlensäure und Wasser verbrannt; Propionsäure und Buttersäure scheinen dagegen nicht angegriffen zu werden.

Am Schlusse dieser Auseinandersetzungen angelangt, kann ich es nicht unterlassen, ausdrücklich zu bemerken, daß bei Verwendung eines günstigeren Nährbodens, als ihn Hefedekokt bietet, die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, daß in einigen Fällen, in denen die Essigbakterien gar keine oder eine nur schwache Oxydationswirkung aufweisen, eine erhöhte physiologische Thätigkeit derselben eintritt und sich das Resultat wesentlich anders gestaltet. Die Einwirkung der Essigsäurebakterien auf Isobutylalkohol in Bierwürze liefert hierzu ein beachtenswertes Beispiel. Auf alle diese Möglichkeiten einzugehen, lag jedoch nicht in der Aufgabe der Versuchsanstellung, es kam vielmehr darauf an, unter möglichst gleichen Bedingungen in Bezug auf das physiologische Verhalten der Essigbakterien vergleichbare Resultate zu erzielen. Dieselben gestatten den Schluß, daß das Gärvermögen der Essigsäurebakterien den einwertigen, primären Alkoholen gegenüber mit zunehmendem Kohlenstoffgehalt derselben abnimmt, daß ferner *B. Pasteurianum* den mehrwertigen Alkoholen und der Glykose gegenüber unter den in Betracht gekommenen Essigbakterien das schwächste Gärvermögen besitzt.

Im Jahre 1893 hatte Ch. Wermischeck<sup>1)</sup> den Versuch gemacht, die essigsäurebildenden Bakterienformen des Weines zu isolieren und näher zu charakterisieren. Dabei erhielt er auf festen Nährsubstraten 6 verschiedene Typen von Bakterienkolonien, die er aber schließlich auf 2 sich wesentlich unterscheidende Bakterienformen zurückführt. Die eine Art bildet auf flüssigem Nährsubstrat ein zartes an den Glaswänden aufsteigendes Häutchen, das, wenn es älter wird, leicht in der Flüssigkeit untersinkt, die Flüssigkeit trübt und einen Bodensatz erzeugt; einzelne Glieder der kettenförmig vereinigten Bakterien waren manchmal zu Stäbchen und aufgeblasenen Formen ausgewachsen. Die von Hansen für *B. aceti* und *B. Pasteurianum* als charakteristisch bezeichnete Gelb- bzw. Blaufärbung will Wermischeck bei dieser Bakterienart nie beobachtet haben, weshalb er es unentschieden läßt, wohin diese Art zu stellen ist.

Die andere von Wermischeck isolierte Art bildet auf flüs-

1) l. c.



sigem Nährsubstrat eine schleimige, zähe, allmählig dicker werdende Haut, welche die von Brown für *B. xylinum* als charakteristisch angegebenen Cellulosereaktionen zeigte. Daß letztere Bakterienart mit dem *B. xylinum* Brown identisch oder dieser wenigstens sehr nahestehend war, ist nach den Angaben Wermisheff's gar nicht zweifelhaft. Anders aber verhält es sich mit der zuerst genannten Bakterienart über deren systematische Stellung man von Wermisheff im Unklaren gelassen wird. Es erschien daher von Interesse, der Frage, welche Bakterien bei der Essigsäuregärung des Weines auftreten können und welcher von Hansen aufgestellten Bakteriengruppe dieselben zuzuteilen sind, neuerdings näher zu treten.

Zu diesem Behufe wurde ein stark essigstichig gewordener Weißwein teils in steriles Lagerbier gebracht und damit eine größere Anzahl Kulturen nach der Verdünnungsmethode in demselben Nährsubstrat angestellt, teils in verflüssigte Würzelgelatine (mit 10 % Gelatine) eingetragen und diese in Petrischalen ausgegossen. Nach wenigen Tagen waren sowohl in einer Anzahl der Kölbchen als auch in den Petrischalen die Bakterien zur Entwicklung gekommen. Die Kulturen in den Kölbchen ließen deutlich drei verschiedene Typen erkennen:

- a) Die erste Type bildete eine zarte, an den Gefäßwandungen stark emporsteigende Haut,
- b) die zweite eine mehr trockene, runzelige Haut, die sich nur wenig über die Flüssigkeitsoberfläche erhob und
- c) die dritte eine feste, schleimige Decke von beträchtlicher Dicke.

Die auf den Platten zur Entwicklung gelangten Bakterienkolonien zeigten im allgemeinen keine besonders auffallenden Verschiedenheiten; dieselben traten jedoch deutlich hervor, nachdem eine größere Anzahl dieser Kolonien auf steriles Lagerbier übertragen worden und hier zur Entwicklung gekommen war. Es zeigten sich da abermals die drei verschiedenen Wachstumsformen der Häute.

Die Untersuchung der erstgenannten Art ergab folgendes Resultat:

Der Gestalt nach sind die Individuen, bei 25° C herangezüchtet, etwas dicker als bei *B. aceti* Hansen, meistens vereinzelt oder zu zweien zusammenhängend. Kettenverbände sind selten.

Bei 34° C auf Bier herangezüchtet ist das Bild ein ähnliches, doch tritt auch hier die Fadenform auf, welche eine Länge von 140  $\mu$  erreicht. In Kulturen, bei 39–40° C zur Entwicklung gebracht, sind dünne Fadenzellen sehr zahlreich vorhanden und erreichen eine Länge von ca 80  $\mu$ ; auch ausgebuchtete Formen wurden hier häufig angetroffen. Werden die bei 40° gewachsenen Kulturen mit zahlreichen Langfäden bei 30–34° hingestellt, so gehen diese schon innerhalb 24 Stunden in die Kettenform über, um bald darauf sich ganz in Einzelindividuen aufzulösen; man findet nach 48 Stunden nur mehr vereinzelt lange Fäden mit Ausbuchtungen. Etwas anders verhält es sich, wenn die bei 40° gezüchteten, zu Langfäden ausgewachsenen Bakterien auf frisches steriles Lagerbier überimpft und bei 34° aufgezüchtet werden; selbst nach 3 Tagen finden sich noch sehr zahl-

reiche mit Anschwellungen versehene, zum Teil allerdings in Zerfall begriffene Fäden. Dieses Bakterium besitzt, wie *B. Kützingianum* Hansen das Bestreben, an den Glaswandungen emporzuwachsen, unterscheidet sich von letzterem jedoch wesentlich dadurch, daß es durch Jod nicht blau gefärbt wird. Es ist daher zweifellos neben *B. aceti* in eine Gruppe zu stellen, ohne mit demselben identisch zu sein, nähert sich vielmehr am meisten dem *B. aceti* Brown und der von Wermischoff beschriebenen Art, mit welchen es das Emporwachsen an den Glaswänden gemeinsam hat; die schwärmende Bewegung, welche Brown für sein *B. aceti* angiebt, habe ich bis jetzt bei dem eben beschriebenen Bakterium nicht beobachtet. Eine auffallende Erscheinung ist die fast gänzliche Verhinderung des Emporsteigens der Haut an der von der strahlenden Wärme getroffenen Seite des Kulturkölbchens. Die Nährflüssigkeit wird während des Wachstums der Bakterien stets getrübt. Die Gruppe „*B. aceti*“ umfaßt, was auch Hansen bereits andeutet, jedenfalls mehrere differente Arten und wird daher wohl in mehrere Unterabteilungen gegliedert werden müssen.

Die zweite Art zeigte in jeder Beziehung die für *B. Pasteurianum* charakteristischen Eigenschaften, weshalb ich es unterlasse, dieselben hier nochmals anzuführen. Es dürfte dieses genügen, um darzuthun, daß auch *B. Pasteurianum* in essigstichigem Weine vorkommt.

Die dritte Art zeigte das nämliche Verhalten und dieselben Reaktionen, wie *B. xylinum* Brown, so daß das Auftreten von *B. xylinum* im Wein auch dadurch neuerdings eine Bestätigung erfährt.

*Nachdruck verboten.*

## Bemerkung zu der Arbeit von Dr. W. Henneberg: Beiträge zur Kenntniss der Essigbakterien<sup>1)</sup>.

Von

A. Zeidler.

Beim Durchlesen dieser vorläufigen Mitteilung von Dr. Henneberg ist mir die große Uebereinstimmung seiner von ihm mit *Bact. oxydans* benannten Essigsäurebakterie mit der von mir in derselben Zeitschrift (No. 23/24. 1896) unter dem Namen *Termobacterium aceti* in die Litteratur eingeführten Art aufgefallen.

Anfangen von dem Fundort beider Bakterien, den Platten- und Strichkulturen, den charakteristisch kopfförmig aufgeschwollenen Formen, der mehr aus Inseln bestehenden Kahmhaut, die durch das leichte Herabfallen fast immer die Nährflüssigkeit trübt, sowie das Wesen der Eigenbewegung, die um so rascher bei *Bact. oxydans* nachließ, je günstiger die Züchtungstemperatur war, was gut mit

1) No. 9/10 dieser Zeitschr.

meinen Versuchen übereinstimmen würde, da ich fand, daß hierbei die gebildete Essigsäure, resp. die fixe Säure die Hauptrolle spielen.

Daß *Bact. oxydans* in einigen Versuchen keine Schwärmbewegung zeigte, was Dr. Henneberg mit dem Alter der Kultur in Zusammenhang zu bringen glaubt, konnte ich allerdings bei *Termobact. aceti* nicht beobachten, doch ist es mir nachträglich gelungen, Kulturen dieser Bakterie zu züchten, die ihrer Eigenbewegung verlustig gegangen waren, sich aber sonst nur in der bedeutend langsameren Umbildung des Alkohols von den übrigen Kulturen unterschieden. Die Abtötungstemperatur von *Bact. oxydans* (durch feuchte Wärme) liegt allerdings höher als die von *Termobact. aceti*, doch ist hierbei, wie ich gezeigt hatte, das Nährsubstrat, in welchem die Bakterie erhitzt wird, von Wichtigkeit.

Dextrose wird ebenso wie von *Bact. oxydans* von *Termobact. aceti* am besten oxydiert, Maltose war mir nicht zugänglich, doch führe ich an, daß in Bierwürze eine Säuerung eintritt, ebenso daß ein Wachstum in Dextrinlösungen von statten geht. Rohrzucker und Glycerin werden von *Termobact. aceti* auch nicht angegriffen.

Was die Säure anbetrifft, die bei Zersetzung von Bierwürze und Dextroselösungen durch *Termobact. aceti* gebildet wird und die sich Dr. Henneberg in Kulturen von *Bact. oxydans* zu untersuchen vorbehalten hat, so sprach ich, auf Grund der Uffelmannschen Milchsäurereaktion, die Vermutung aus, daß es Milchsäure sei. Da jedoch das Zinksalz keine ausgesprochene Krystallform des Zinklaktates aufwies, sowie den Umstand in Betracht gezogen, daß Dextrose am besten zersetzt wird, halte ich es jetzt für wahrscheinlicher, daß die gebildete Säure Glukonsäure ist.

Ich weiß nun zwar nicht, ob Herr Dr. Henneberg meine Abhandlung gelesen hat, da er mit keinem Worte dieselbe berührt, trotzdem glaube ich, daß es nach den hier aufgeführten Beispielen von Interesse wäre, festzustellen, ob nicht *Termobact. aceti* und *Bact. oxydans* identisch sind und steht meinerseits Material dazu jederzeit Herrn Dr. Henneberg zur Verfügung.

Moskau, 17. Juni 1897 (a. St.).

*Nachdruck verboten.*

## Bakteriologische Untersuchung der Mineralquellen der Schweiz.

### II. Thermen.

Die Thermalquellen in Ragaz-Pfäfers (Kanton St. Gallen).

Von

Dr. J. Wittlin.

Auf dieselbe Weise wie bei der Untersuchung der Schwefelthermen Badens (Centralblatt für Bakteriologie. II. Abt. Bd. II. 1896. No. 18)

wurde auch bei der Entnahme der Proben zur bakteriologischen Prüfung der Thermalwässer in Ragaz-Pfäfers vorgegangen.

Es wurden somit an Ort und Stelle der Entnahme 1) Gelatineplatten mit je 1, 10, 20 und 40 Tropfen resp.  $\frac{1}{20}$ ,  $\frac{1}{2}$ , 1, 2 ccm vom Thermalwasser geimpft und sofort zur Erstarrung gebracht; 2) Agarplatten mit 10 Tropfen =  $\frac{1}{2}$  ccm und 40 Tropfen = 2 ccm gegossen und, nachdem sie erstarrt waren, in einen Eiskasten gesteckt; 3) 500 ccm Quellwasser in mehrere sterilisierte Gefäße gefaßt, gleichfalls in den Eiskasten gegeben und nach Bern in das Laboratorium zur weiteren Untersuchung verbracht.

In Bern angelangt, hatte der Eiskasten die Temperatur  $+ 3^{\circ} \text{C}$ . Es wurden nun die bereits in Ragaz-Pfäfers gegossenen Platten, die vollkommen unversehrt anlangten, in den Brutschrank, und zwar die Gelatineplatten bei  $22^{\circ} \text{C}$ , die Agarplatten bei  $37^{\circ} \text{C}$ , zur weiteren Entwicklung gegeben. Die mitgebrachten 500 ccm Quellwasser wurden nach der Milchzuckerbouillonmethode auf *Bacillus coli* (vgl. Centralblatt für Bakt. Abt. I. Bd. XVIII. p. 102) und nach der Parietti'schen Methode auf pathogene Bacillenarten untersucht.

Die Impfung in Milchzuckerbouillon geschah auf folgende Weise:

Von 12 mit 5 ccm steriler Milchzuckerbouillon gefüllten Freudenreich-Kölbchen wurden

4	mit	$\frac{1}{20}$	ccm
4	"	$\frac{1}{2}$	"
4	"	2	"

des zu untersuchenden Wassers geimpft und in den Brutschrank bei entsprechender Temperatur gestellt, um an der eventuellen Gasbildung das Vorhandensein von Colibacillen zu konstatieren. Nach Parietti'scher Methode wurden ebenfalls 4 Kölbchen behandelt, und zwar 2 Kölbchen à 90 ccm Quellwasser, zu denen je 9 ccm einer 2-proz. Peptonbouillon und 30 resp. 50 Tropfen Parietti'scher Säure zugegeben wurden; in die anderen 2 Kölbchen mit je 9 ccm des Thermalwassers wurde je 1 ccm einer 20-proz. Peptonbouillon und 3 resp. 5 Tropfen der Parietti'schen Säure zugesetzt und darauf alle 4 Kölbchen in den Brutschrank gesetzt.

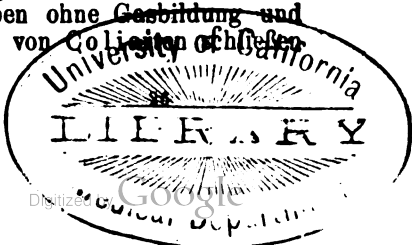
Nach 2 Tagen waren auf den Gelatineplatten, die mit

$\frac{1}{20}$	ccm	des Thermalwassers	geimpft	waren,	0	Kolonien	gewachsen,
$\frac{1}{2}$	"	"	"	"	8	"	"
1	"	"	"	"	14	"	"
2	"	"	"	"		verflüssigt.	

Alle Kolonien gehörten derselben verflüssigenden Gattung an und wurden als *Bacillus fluorescens liquefaciens* diagnostiziert; auch die Agarplatten zeigten eine dem *Bacillus fluorescens liquefaciens* eigentümlich bläulich-grüne Fluoreszenz. Außer der eben beschriebenen war auf keiner der Platten eine andere Bakterienart zu sehen.

In den nach der Parietti'schen Methode behandelten Kölbchen war gar keine Trübung entstanden, somit die Möglichkeit des Vorhandenseins pathogener Bakterienarten ausgeschlossen.

Die Kölbchen mit Zuckerbouillon blieben ohne Gasbildung und Trübung, was auf vollkommene Abwesenheit von Colibacillen hinweist.



Aus den Ergebnissen läßt sich nun das Facit ziehen, daß das Thermalwasser in Ragaz-Pfäfers eine nur ganz geringe Zahl (14 per ccm) nichtpathogener Bakterienarten enthält, die in jedem anderen Trinkwasser in weitaus größerer Zahl vorhanden sind.

Nach der von Miquel aufgestellten Skala über den Bakteriengehalt des Wassers wird ein Wasser, welches 10—100 Keime pro 1 ccm enthält, als sehr rein, 100—1000 Keime pro 1 ccm als rein angesehen, wobei sich diese Zahl selbstverständlich auf nichtpathogene Bakterien bezieht.

Seine außerordentliche Reinheit hat das Ragazer Thermalwasser mehreren Umständen zu verdanken, von welchen ich die wichtigsten drei anführe:

1) Der wichtigste Grund wird meiner Ansicht nach seine ziemlich hohe Temperatur sein, die, als ich sie um 10 Uhr früh maß, 37° C betrug. Wir finden zwar bei viel höheren Temperaturen noch gewisse im Wasser vorkommende Bakterienarten, dieselben fehlen aber hier vollkommen, wozu eben der zweite Grund, die glücklichen geologischen Verhältnisse, und hauptsächlich der dritte, die chemische Beschaffenheit des Wassers, viel beigetragen hat. Nach den Untersuchungen durch Dr. von Planta-Reichenau enthält das Thermalwasser folgende Bestandteile.

a) fixe Bestandteile in 10 000 Teilen:

Schwefelsaures Kali . . . . .	0,0746
Schwefelsaures Natron . . . . .	0,3294
Chlornatrium . . . . .	0,4934
Chlorlithium . . . . .	0,0020
Jodnatrium . . . . .	0,0001
Bromnatrium . . . . .	0,0002
Borsaures Natron . . . . .	0,0038
Kohlensaures Natron . . . . .	0,0613
Kohlensauen Kalk . . . . .	1,3064
Kohlensaures Magnesia . . . . .	0,5306
„ Strontian . . . . .	0,0152
„ Baryt . . . . .	0,0064
„ Eisenoxydul . . . . .	0,0172
Phosphorsaure Thonerde . . . . .	0,0091
Kieselsäure . . . . .	0,1408
Spuren von Rubidium, Caesium und Thallium	

---

Summe fixer Bestandteile 2,9905

b) Gasförmige Bestandteile:

Halbfreie und freie Kohlensäure 0,7461; das ausgekochte Gas enthält in 100 Teilen

Kohlensäure . . . . .	16,43
Sauerstoff . . . . .	24,24
Stickstoff . . . . .	59,33

Da das Wasser keine vollen 3 Proz. fixer Bestandteile enthält, kann es zu den indifferenten Thermen gezählt werden.

Wichtig für die bakteriologische Untersuchung ist noch der Umstand, daß die Proben aus einem Reservoir, in welchem sich mehrere

Quelladern vereinigen, entnommen wurden. Die wichtigsten dieser Quelladern sind die Hartmannsquelle, Stauquelle und Stollenquelle.

Die Untersuchung des Thermalwassers in Ragaz habe ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Tavel, Leiter des bakteriologischen Institutes der Universität Bern und Herrn Dr. E. von Freudenreich, Leiter des bakteriologischen Laboratoriums der Molkereischule Rütli, ausgeführt, denen ich für ihr reges Interesse während der Untersuchung meinen besten Dank an dieser Stelle ausdrücke.

#### Litteraturverzeichnis.

- J. F. Kaiser, Die Therme von Ragaz-Pfäfers. 1869.  
 F. L. Egger, Urkunden und Aktensammlungen von Ragaz. 1872.  
 H. Kaiser, Ragaz-Pfäfers und ihr Exkursionsgebiet. 1880.  
 Oesch, Pfarrer, Geschichtliches über das Bad Pfäfers. 1882.  
 A. Schädler, Ragaz-Pfäfers: Die Heilwirkungen seiner Therme etc. 1889.  
 A. Levertin, G. Zander's medico-mechanische Gymnastik. 1892.  
 A. Bertling, Die Zander'sche medico-mechanische Behandlungsmethode. 1893.

*Nachdruck verboten.*

## Eine neue Kartoffelkrankheit?

[Aus dem Institute für Pflanzenphysiologie und Pflanzenschutz an der  
 Kgl. landw. Hochschule zu Berlin.]

Von

Professor Dr. Frank

in

Berlin.

Im Jahre 1892 hat man in Amerika eine Erkrankung der Kartoffelpflanze beobachtet und für eine neue Krankheit ausgegeben, der man den Namen Early Potato Blight beilegte. Als Symptome derselben bezeichnete man, daß auf den erwachsenen Blättern runde, trockenwerdende schwarzbraune Flecken auftreten, die sich später vergrößern und zusammenfließen, wodurch endlich das ganze Blatt vertrocknet. Auf den Flecken befand sich ein Pilz, der als die Ursache der Krankheit betrachtet und *Macrosporium Solani* Ell. et Mart. genannt wird.

Im Jahre 1896 berichtete Sorauer (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten 1896. p. 1), daß ihm diese Krankheit auch in Europa, nämlich in Ungarn 1895, zur Kenntnis gekommen sei. Er verschaffte sich Proben amerikanischer Kartoffelpflanzen mit dem Early Blight, und der Befund an diesen stimmte mit demjenigen der kranken ungarischen Pflanzen überein.

Im Jahre 1895 habe ich im Jahresbericht für Pflanzenschutz (Arbeiten der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft. Heft 19. S. 58) das Auftreten einer Krankheit der Kartoffelstauden angezeigt und die Symptome derselben beschrieben, die sich als übereinstimmend mit denjenigen der in Rede stehenden Krankheit erwiesen. Ich habe

derselben damals absichtlich keinen neuen und überhaupt keinen Namen gegeben, sondern sie nur als Sachwarzfleckigkeit der Blätter ohne Verpilzung beschrieben. Denn die große Aehnlichkeit mit der uns längst bekannten Kräuselkrankheit ließ sich dabei nicht verkennen, während allerdings einige der Symptome, die man sonst dieser Krankheit beilegt, fehlten. Ich kann jedoch hinzufügen, daß mir schon aus früheren Jahren das Vorkommen dieser Erscheinung in Deutschland erinnerlich war, wenn ich sie auch früher nicht genauer untersucht hatte. Man darf danach wohl vermuten, daß die Krankheit schon länger in Deutschland vorhanden ist.

Daß dieselbe in Deutschland aber auch ziemlich verbreitet ist, geht besonders aus dem Jahresberichte für Pflanzenschutz 1896 hervor, wo über ihr Vorkommen auf p. 59—61 berichtet wird. Die 1896 fortgesetzte Untersuchung bewies mir, daß es wieder dieselbe Erscheinung ist, welche ich laut der oben erwähnten Mitteilung schon 1895 in Deutschland zuerst angegeben habe.

Sorauer sieht hierin nun eine neue Krankheit und nennt den dabei auftretenden Pilz, den er für die Ursache derselben hält, *Alternaria Solani*. Da er nun von demselben eine nähere Beschreibung sowie Abbildungen giebt, so ist daraus genau ersichtlich, was Sorauer für einen Pilz vor sich gehabt hat. Hiernach ist jeder Zweifel ausgeschlossen, daß es sich um keinen neuen Pilz handelt, sondern um einen längst bekannten in Deutschland gemeinen Kartoffelpilz. Schon im Jahre 1875 hat Schenk (Deutsche landw. Presse. 20. November 1875) denselben als einen Begleiter einer Form der Kräuselkrankheit der Kartoffel aufgefunden und *Sporidesmium exitiosum* var. *Solani* genannt. Diesen Pilz hat nämlich schon 1856 J. Kühn auf den Schoten und Blättern des Rapses und der Mohrrüben beobachtet und *Sporidesmium* (oder *Polydesmus*) *exitiosum* genannt, auch in seinem Buche über die Krankheiten der Kulturpflanzen. Berlin 1859. p. 151—177 sehr genau beschrieben und abgebildet (Tafel VI). Wer diese Abbildungen vergleicht mit den Bildern, welche jetzt Sorauer für den Kartoffelpilz giebt, wird die vollständige Uebereinstimmung erkennen. Auch Schenk hat bei dem von ihm gefundenen Kartoffelpilze die volle Uebereinstimmung mit dem alten Kühn'schen Pilze sofort bemerkt, und da er eben keinen Unterschied finden konnte, so hat er den Kartoffelpilz als eine bloße, auf einer anderen Pflanze wachsende Varietät des Kühn'schen Pilzes bezeichnet, wie es eben in dem Namen *Sporidesmium exitiosum* var. *Solani* ausgedrückt ist. Sorauer kann die Kühn'schen und Schenk'schen Beschreibungen und Abbildungen unmöglich mit seinem Pilze verglichen haben. Auch daß er den Namen *Alternaria* wählt statt *Sporidesmium*, wie es Kühn und Schenk thaten, beweist nicht etwas anderes. Der Name *Sporidesmium* bezeichnet nämlich eine Konidienform, wo die Spore umgekehrt keulenförmig und durch eine Anzahl von Quer- und Längsscheidewänden gekammert ist, wie es für den in Rede stehenden Pilz zutrifft. Frühere Mykologen hatten den Namen *Alternaria* für solche *Sporidesmium*-Formen eingeführt, wo auf der Spitze der Spore nochmals eine *Sporidesmium*-Spore sich ge-

bildet hat, und auf dieser wohl nochmals, so daß also mehrere solcher Sporen kettenförmig übereinander stehen. Nun vermehren sich aber die Sporidesmien häufig in dieser Weise, es ist also nicht gerechtfertigt, solche bloße Sprossungszustände für eine neue Pilzgattung zu halten. Auch hat Kühn schon in seinen Figuren eine Menge solcher Sprossungen seines Sporidesmium abgebildet; er giebt sogar in den Beschreibungen ausdrücklich diesen Vegetationszustand des Pilzes an, indem er in der Diagnose seines Sporidesmium auf Seite 165 auch eine „forma  $\beta$ ) Aternarioides“ unterscheidet. Sorauer hätte also nicht nötig gehabt, einen neuen Namen zu wählen, der natürlich zu dem Irrtum Veranlassung geben muß, daß hier auf einmal ein neuer Kartoffelpilz vorliege.

Warum haben aber die Amerikaner den Pilz *Macrosporium* anstatt *Sporidesmium* genannt? Diese beiden Gattungsnamen rühren her von den alten Mykologen Fries und Link und sind keineswegs mit scharf unterschiedenen Diagnosen belegt worden. Sie bedeuten beide eine Konidienform, wo die Spore durch viele Quer- und Längsscheidewände gekammert und braun gefärbt ist. Spätere Mykologen haben die Namen oft so angewendet, daß *Sporidesmium* eine verkehrt keulenförmige, *Macrosporium* eine ovale, also beidererds gleiche Konidienform bezeichnet. Es ist nun wohl möglich, daß die Amerikaner, denen vielleicht die deutsche Litteratur und also die Arbeiten von Kühn und Schenk weniger bekannt waren, bei dem schwankenden Charakter der oben genannten beiden Gattungsnamen die Bezeichnung *Macrosporium* für das wählten, was bei uns *Sporidesmium* genannt worden ist. Doch auch die Möglichkeit ist denkbar, daß der Pilz sowohl keulenförmige *Sporidesmium*-Konidien, als auch ovale *Macrosporium*-Konidien bildet. Wenigstens sind solche Polymorphien der Konidien nach Analogie anderer Pilze nicht ausgeschlossen.

Wie steht es nun mit der Beziehung des Pilzes zu der Krankheit? Der Pilz ist also zuerst von Schenk bei der Kräuselkrankheit der Kartoffel angegeben worden. Betreffs der Natur dieser Krankheit steht Schenk auf einem anderen Standpunkte als vor ihm Kühn, indem letzterer dabei nichts von Pilzen auffinden konnte und diese Krankheit daher nicht für parasitärer Natur hält. Schenk nimmt zwei Formen der Kräuselkrankheit an; beide haben die charakteristischen schwarzbraunen Blattflecken; aber die eine zeigt keine Pilzbeteiligung, entspricht also der Kühn'schen Form, die andere zeigt auf den Blattflecken Vegetation des *Sporidesmium*. Ob das letztere in einer ursächlichen Beziehung zu der Krankheit steht, hatte Schenk aber nicht entschieden. Bei dem Early Blight steht der Pilz nach Sorauer's Ansicht in einer notwendigen Beziehung dazu, er soll der Urheber derselben sein. Dafür ist jedoch von ihm kein wirklicher Beweis erbracht worden. Im Gegenteil haben meine mehrjährigen in der letzten Zeit angestellten Untersuchungen mich gelehrt, daß bei der Kräuselkrankheit der Kartoffeln, einschließlich des Early Blight, das *Sporidesmium* die Ursache nicht sein kann.

Wenn man nämlich der ersten Entstehung der schwarzen Flecken



auf den Blättern bei beiden Krankheiten nachforscht, was am besten an der Pflanze gleich vom Felde weg geschieht, so findet man immer als Anfang ein Braunwerden des Protoplasmas der Epidermiszellen, der Spaltöffnungs- und der Haarzellen ohne jeden nachweisbaren Pilz. Die Flecken nehmen dann auch zu an Umfang, und auch das tiefer liegende Blattgewebe erkrankt in dieser Weise. Aber die Flecken bleiben oft sehr lange Zeit pilzfrei; manchmal erst sehr spät, manchmal zeitiger entsteht auf den toten Flecken ein Pilzmycelium, welches dann auch oft in der *Sporidesmium*-Form fruktifiziert. Somit kann dieser Pilz die Ursache der Fleckenbildung nicht sein; er tritt erst sekundär auf der schon abgestorbenen Unterlage auf. Er ist nämlich ein sehr gemeiner Pilz, der auf abgestorbenem Kartoffelkraute sehr gewöhnlich sich entwickelt, also offenbar für tote Unterlage Vorliebe hat. Immerhin schließt das die Möglichkeit nicht aus, daß sein Mycelium, wo es auf einem lebenden Blatte entstanden ist, unter Umständen auch diesem örtlich zu schaden vermag.

Somit kann ich nur der Ansicht beipflichten, welche schon Kühn 1859 über die Kräuselkrankheit der Kartoffel geäußert hat: Wir haben keinen Grund, sie für eine Infektionskrankheit der Blätter anzusehen, sie hat eine unbekannte, im ganzen Individuum liegende Ursache. Und das gilt ebenso für den Early Blight, der überhaupt nichts anderes ist, als eine der verschiedenen Symptomenformen, unter denen das, was man unter dem Kollektivnamen „Kräuselkrankheit“ zusammenfaßt, auftritt. Allerdings wird bei Early Blight das Symptom der Kräuselung der Blätter vermißt. Wenn man aber Reinke's Abhandlung, welche die letzte ist, die über die Kräuselkrankheit 1879 geschrieben wurde, durchstudiert, so gewinnt man die Ueberzeugung, daß die Kräuselung der Blätter ein graduell wechselndes, mitunter ganz fehlendes Symptom ist. In der That kann ich dies nur bestätigen, da ich vielfach Kräuselkrankheit auf dem Felde unter den Augen gehabt habe. Das Krauswerden der Blätter ist dabei kein konstantes Merkmal. Der Beobachter sieht sich gezwungen, eine Anzahl verschiedener Formen derselben Krankheit zu unterscheiden, und eine derselben ist auch das, was Early Blight genannt worden ist. Aber ein Merkmal haben doch alle diese Krankheitsformen gemein, wodurch sie eben als etwas Zusammengehöriges sich erweisen; und darauf ist gerade bei den bisherigen Beschreibungen des Early Blight eigentlich nicht genügend hingewiesen worden. Das Merkmal liegt darin, daß die gesamte Staude in der betreffenden Weise erkrankt: an jedem Stengel folgt von unten an Blatt für Blatt dem Alter nach im Krankwerden aufeinander; unmittelbar neben solchen Stauden können völlig gesunde Stauden stehen. Es kann also von einer örtlichen Infektion einzelner Blätter oder Blattstellen, wie sie bei den wirklichen Infektionskrankheiten ganz ohne Wahl einzelner Stauden auftritt, hier keine Rede sein; es muß eine von inneren Gründen bedingte Totalerkrankung des ganzen Individuums vorliegen.

Warum nun diese Krankheit in verschiedenen Symptomen auftritt und warum die Kräuselung der Blätter das eine Mal vorhanden ist, das andere Mal ganz unterbleiben kann, und so die Form des Early Blight sich ergibt, hat einen einfachen physiologischen Grund,

den ich ebenfalls anzugeben vermag. Bei allen diesen Erkrankungen stirbt an jedem Blatte in gewissem Alter das Blattgewebe an einzelnen isolierten Stellen ab, indem die Oberhaut damit beginnt und dann die tiefer liegenden Zellen nachfolgen. Die eigentliche Ursache dieses Absterbens und also dieser Fleckenbildung ist freilich bis jetzt noch nicht erkannt. Tritt nun dieses Absterben auf den Rippen der Blätter ein, was dann immer an der Unterseite des Blattes geschieht, so ergeben sich die kleinen, schwarzen, strichförmigen Fleckchen, die an den Rippen sich zeigen und von da aus auch ins Mesophyll hineingehen, wie es für die gewöhnliche Kräuselkrankheit charakteristisch ist und wo man diese Flecken sogar bis auf die Hauptrippen und den Blattstiel, selbst bis auf den Stengel verfolgen kann. Hier muß Kräuselung des Blattes eintreten, denn die Blattrippen werden durch ihre beschädigten Stellen am gleichmäßigen Wachstum gehindert; das letztere kann nur an der gesunden Oberseite der Rippe fortschreiten, während es in dem erkrankten Gewebe der Unterseite gehemmt ist. Die notwendige unmittelbare Folge ist, daß die Rippen sich in der Weise krümmen müssen, daß ihre weniger wachsende Unterseite konkav wird; mit anderen Worten: die einzelnen Blättchen ziehen sich nach unten zusammen und auch Hauptrippen und Blattstiel krümmen sich rückwärts; es entsteht die Kräuselung der Blätter. Nicht immer ist der Blatterkrankungsprozeß an der Rippenunterseite so stark, daß er äußerlich als deutliche Fleckenbildung hervortritt. Auch der Kräuselungsgrad der Blätter ist wechselnd. Findet dagegen das Erkranken nicht auf den Rippen, sondern mitten im Mesophyll an isolierter Stelle statt, so stirbt natürlich diese letztere ab, während die unbeschädigten Rippen in ihrem gleichmäßigen Wachstum fortfahren; die Blätter kräuseln sich also nicht, haben aber im Mesophyll die pockenartigen, rundlich-eckigen, von Blattnerven begrenzten schwarzbraunen Flecke, man hat den Early Blight vor sich. Man trifft auch Stauden, welche zwischen diesen Symptomen Uebergangsformen zeigen, woraus ebenfalls die Zusammengehörigkeit dieser Erscheinungen erhellt. Es lassen sich manchmal auf einem Felde alle verschiedenen Formen beisammen finden.

Nach diesen Darlegungen wird man sich sagen müssen, daß die Bezeichnung Kräuselkrankheit für diese ganze Gruppe von Krankheiten nicht recht bezeichnend ist, weil nicht überall das Symptom der Blattkräuselung vorhanden ist. Da es sich nun bei allen Formen um eine auf die ganze Staude wirkende unbekannte Krankheitsursache handelt, so ist vielleicht der allgemeine Name Staudenkrankheit bezeichnender. Dann wird man gut thun, für die hervorstechendsten Varietäten dieser Krankheit bezeichnende Ausdrücke zu wählen, wenn man auch festhalten muß, daß sie nichts wesentlich voneinander Verschiedenes bedeuten. Für die Form, wo die Erkrankung des Blattgewebes an der Rippenunterseite eintritt und Kräuselung die notwendige Folge ist, wird man den Ausdruck Kräuselkrankheit beibehalten können, obgleich, wie gesagt, das Symptom der Kräuselung bis zum Fehlen abgeschwächt sein kann. Die Form, wo die Gewebeerkrankung vorwiegend, das Mesophyll anstatt die Rippen betrifft und wo also keine Kräuselung entstehen kann, haben die Ameri-

kaner Early Potato Blight (d. h. früher Kartoffelbrand) genannt. Sorauer gebraucht den Namen Dürffleckenkrankheit dafür. Man sollte jedoch einen Namen wählen, der das Krankheitsbild besser bezeichnet, denn dürre Flecken giebt es auch bei mancherlei anderen Krankheiten, wie z. B. bei *Phytophthora infestans*, nach gewissem Insektenbefall etc. Ich habe den Namen Pockenflecken der Blätter benutzt, weil dadurch das für die Krankheit Charakteristische der isolierten rundlich-eckigen, durch ihr Austrocknen pockenartig erhaben an der Oberseite hervortretenden Flecke gekennzeichnet wird. In dem letzten Jahresberichte für Pflanzenschutz 1896 stellt Sorauer auch noch eine „Stippfleckenkrankheit“ der Kartoffel auf. Dies ist aber noch weniger etwas Neues und der neue Name ist überflüssig, denn die kleinen, eckigen, oft strichförmig auf den Rippen hinlaufenden schwarzbraunen Flecken der Blätter, mit welchen diese Krankheit beschrieben wird, sind eben dieselben, welche der gewöhnlichen, längst bekannten Kräuselkrankheit eigen sind. Allerdings ist dabei nicht immer die Kräuselung der Blätter deutlich. Den Grund für das Wechselnde dieses Merkmals wird man einsehen nach den oben hierüber gemachten Bemerkungen und besonders, wenn man sich die physiologischen Veranlassungen klar macht, welche das Krauswerden eines Blattes herbeiführen müssen. Man kann auch Kartoffelblätter, welche in der erwähnten Weise erkrankt sind, ohne deutliche Kräuselung zu zeigen, auf einfache Weise künstlich in den gekräuselten, glasartig spröden Zustand versetzen.

Ich will jedoch hier nicht näher auf meine Untersuchungen über die verschiedenen Formen der Staudenkrankheiten, die so viel Wirrwarr unter den Pathologen hervorgerufen haben, eingehen; ihre Ergebnisse erscheinen bald bei anderer Gelegenheit. Hier sollte nur die Angabe, daß es sich um eine neue Kartoffelkrankheit in Europa handele, widerlegt und nachgewiesen werden, daß auch der angeblich neue Pilz ein längst bekannter gemeiner Kartoffelpilz ist und daß derselbe an der Entstehung der betreffenden Krankheiten schuld zu sein nicht überwiesen ist.

14. Juli 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Pseudomonas campestris (Pammel). The cause of a brown rot in cruciferous plants.

By

Dr. Erwin F. Smith,

Asst. Pathologist, Division of Vegetable Physiology and Pathology,  
U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C., U. S. A.

With 1 Plate.

(Continuation.)

One of the most striking symptoms of this disease is the brown or black staining of the tissues occupied by the bacteria. Prof. Pammel

mentioned this but did not emphasize it to the extent it deserves. In this particular the disease may be compared with that of the tomato, eggplant and potato due to *Bacillus solanacearum* (Bulletin No. 12. Division of Vegetable Physiology and Pathology, U. S. Department of Agriculture. 1896)<sup>1</sup>). The blackening of the veins of the leaves was much more pronounced in cabbage and kale than in rape and turnips. The brown pigment is probably a humus compound and results most likely from the destruction of some carbohydrate. Further than this cannot be said in the present uncertain state of the chemistry of humus compounds.

So far as my experience goes, the decay induced by this organism is a sort of dry-rot. In none of my greenhouse infections have the plants shown any symptoms of what might be called a soft or wet-rot, leaves like Fig. 5 being dry under the fingers and without odor, the bacteria remaining concealed inside the veins and the adjacent tissues. In the field, in wet weather, one would, of course, expect the mummification or dry-rot to be followed more or less rapidly by a mal-odorous wet-rot due to other organisms, and in many instances this soft-rot might be the first to attract the cultivator's attention.

This is peculiarly a vascular disease. The rapid growth of the bacteria inside of the vessels and their extension through them for long distances from the point of entrance are due to a variety of favoring causes, principally to the fact that they are motile in early stages of growth, and to the presence in these vessels of water containing enough dissolved matters, organic and inorganic, to greatly favor their growth. The so-called grape sugar reaction may be obtained inside the vessels of both cabbage and kale by means of Fischer's test (Bot. Zeit. 1888. p. 405 and Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXII. p. 73) and alkaline salts are also present to an extent fully as great as in the cucurbitaceous plants mentioned in my paper on *Bacillus tracheiphilus* (Centralbl. f. Bakt. etc., II. Abt. Bd. I. p. 364). Unquestionably, traces of nitrogenous compounds are also present, and once introduced into the vessels of the plant, with favoring temperatures such as those of the summer and autumn months, and with sufficient aeration, the organism finds conditions very favorable for its spread through the entire vascular system of the plant, or at least so much of it as forms a connected whole and is not separated by too wide areas of unfavorable woody or parenchymatic tissue.

We may now turn to a consideration of the natural methods of infection. Early in the course of these experiments an attempt was made to infect cabbage and turnip plants by means of greenhouse slugs, *Agriolimax agrestis* L., these animals being (in the winter time) the only ones at hand adapted to the purpose. Not having any diseased plants on which to feed them, they were simply dumped for a minute or two one afternoon into a beef broth culture of the organism, and then placed under a bell jar on 8 healthy

---

1) Copies of this Bulletin may be obtained from Oswald Weigel, Leipsic, or from the Bureau of Public Documents, Washington, D.C.

plants (4 cabbages and 4 turnips) and left over night, this animal eating mostly by night. The slugs crawled over all of these plants, and gnawed them a little here and there, but did them no serious injury. In the morning they were removed and destroyed that they might not infect other plants. After a number of days (12 to 28) symptoms appeared on most of the plants, beginning with the gnawed places. In the cabbages the micro-organism passed down the petioles of the affected leaves and entered the stem, but up to this time in only two plants have other leaves become affected as the result of this stem infection. In the turnips the disease died out in the leaves. Later, when diseased material such as that shown in fig. 5 was abundant, this experiment was repeated on cabbage and kale with positive results. The slugs were first fed on diseased leaves and then placed over night under a bell jar on healthy plants, and the disease appeared on several of the latter in two or three weeks and slowly passed through its usual phases, viz. from strictly local symptoms on the bitten leaves to constitutional symptoms due to the passage of the germs downward into the stem and then upward into other leaves by way of the vascular system. In a number of cases both in cabbage and kale this secondary or constitutional infection was very marked, large areas of the leaves becoming yellowish, flabby and brown veined. It is certain, therefore, that this disease can be transmitted from one plant to another by means of slugs and it is almost equally certain, although I can offer no experiments in support of the statement, that the disease may be transmitted by any of the various bugs, beetles, and larvae that are prone to feed upon our cultivated cruciferous plants. I should suppose the common cabbage worm (larvae of *Pieris rapae*) would be very likely to spread this disease. The progress of the disease in already infected plants is materially hastened, no doubt, in the same way, i. a. by numerous re-inoculations into all parts of the plant<sup>1</sup>).

Certain vegetable pathologists have been very loth to admit the existence of bacterial diseases in plants, and when hard pressed have usually escaped by saying that these so-called bacterial diseases are only the followers of fungous attacks or find an accidental entrance into the plant after it is mechanically injured. How this puts bacterial plant diseases on any other footing than bacterial animal diseases, providing it were admitted, is not altogether clear, but even these suppositions must be given up as I shall show very plainly in the following paragraph, the gist of which is that in this disease even the breaking of the surface of the leaf by the gnawings or punctures of animals or by the entrance of fungi is not necessary to bring about infection.

---

1) Since this was written several cabbage plants have been infected by means of the larvae of *Plusia brassicae*, the common "American cabbage worm". These larvae were obtained for this purpose from southern Florida. They were fed upon diseased leaves and stems (cabbage and cauliflower) for a few hours and then transferred to the healthy cabbage plants where they were allowed to feed for 3 or 4 hours. The first symptoms appeared on the 13th day around holes eaten in the leaves.

Some weeks after the first slug-infected plants came down with the disease (as a result of the gnawings) two or three of the cabbage leaves showed additional tardy infections. These belated infections were on the margin of the leaf and could not be attributed to gnawings with any certainty, and were clearly not the result of any constitutional or general infection of the plants, the latter having not yet taken place, but were purely local and very much restricted when first discovered. Subsequently, similar marginal infections to the number of half a dozen or more (see fig. 7) occurred on cabbage plants which had been inoculated by needle punctures. These infections were either on some other part of the originally inoculated leaf or on neighboring leaves. In all of these cases the infection was not only marginal, and unattributable to any injury, but began in a water pore. No such disease was ever before in this greenhouse or, so far as known, anywhere near it, and the reasonable supposition appeared to be that these subsidiary and unexpected infections started from the germs originally placed on these plants for purposes of inoculation, some of which might have readily found their way to the margin of the leaf, either carried by flies, ants, aphides, or slugs (all of which were present in small numbers) or spread by the gardener when watering, the plants having been originally infected by lifting out a drop of a bouillon culture, placing it on a leaf, and thrusting the point of the needle through it into the leaf as many times as seemed necessary, the slight remainder of the drop being allowed to dry up on the surface of the leaf.

The discovery of these marginal infections placed the subject in a new light and experiments were at once undertaken to determine whether plants might not be infected as readily through the water pores as by means of needle punctures. The cabbage was selected for this purpose and five series of such experiments were undertaken in rapid succession with very successful results. Healthy plants 20 to 25 cm high, of two varieties, were selected for this purpose, and the pots turned down on their side. The 4th to 7th leaf up was then selected and from  $\frac{1}{2}$  to  $\frac{3}{4}$  of its blade was plunged into several 100 ccm of freshly distilled water, in a clean beaker, to which 3 or 4 ccm of beef broth was added so as to make a very dilute pabulum. The fluid in these beakers was then inoculated with a pure culture of the micro-organism. The leaves were left in the fluid from 6 to 48 hours and when removed appeared to have suffered no injury whatever, in fact, were not wetted. The fluids, in most cases, were lightly clouded by the growth of the bacteria when the leaves were removed. Infections were secured from all of these five sets of plants and were first visible in 4 to 6 days as tiny black specks in the water pores, best seen at first with a hand lens (Zeiss,  $\times 6$  Aplanat). Some of the immersed leaves showed no infections; others, a very few; others, as many as 15 to 25 separate ones, corresponding to as many water pores and including nearly all of the submerged ones. In all, 24 leaves were submerged, seven of which resisted the disease. On three of the remaining 17 plants the disease never spread beyond the vicinity of the water pores.

On the other 14 plants the organisms finally escaped from the water pores and caused a general vascular infection of the leaf. On these 24 plants there were no accidental infections except on one leaf (a marginal infection restricted to a single water pore). This leaf was on the same side as the submerged leaf and near it and may have been wetted accidentally. For some unknown reason, possibly owing to insufficient water supply, or inability of the organisms to immediately dissolve the cell walls and thus pass from the water pores into the vessels of the veins of the leaf, the progress of the disease for the first three weeks was very slow, so slow, in fact, that I was almost ready to abandon the experiments as a complete failure. Subsequently, the movement of the disease was more rapid, and in every way satisfactory (see figs. 8 and 9). These marginal infections, whether accidental or experimentally produced, gradually involved the whole leaf with the characteristic yellowing of the parenchyma and browning of the veins. On removing such leaves after the blades were badly affected, the bundles in the base of the petiole were seen to be browned, their vessels were gorged with an organism morphologically like the one used, and, finally, cultures made from the interior of such petioles yielded great numbers of the yellow germ and nothing else, showing clearly to what organism the symptoms were attributable. Secondary or constitutional symptoms have developed in only one of these plants up to date, but are to be expected in others. In this plant they are very characteristic on one leaf consisting of the browning of most of the bundles of the petiole with the yellowing of the parenchyma and the browning of the veins of the lower central part of the leaf blade, the lowermost bundle of the petiole and the upper part of the leaf blade being free from symptoms.

The entrance into the plant of wind or water borne or insect carried germs which might happen to lodge on the mouth of a water pore would perhaps never take place in dry air, but would be made easy by the extrusion of water in the form of drops, as shown in fig. 10. This form of water excretion often occurs during cool or moist weather, particularly at night, and the drops frequently remain on the apex of the leaf tooth (over the water pore) long enough to allow the rods to divide and swim into the substomatic chamber of the pore, where on the evaporation of the drop it would remain imprisoned in a moist, dark place suitable for further growth. Now that the easy artificial infection of cabbages through the water pores has been demonstrated, it is but a short step to this second conclusion. Indeed, a more admirable contrivance for the spread of this disease could scarcely have been purposely thought out: crawling insects and other living carriers of the bacteria are seldom or never wanting in cabbage fields; the extruded drop may remain over the mouth of the pore for hours, slowly increasing or diminishing in size according to the degree of saturation of the air; these drops are not pure water but contain traces of the same organic and inorganic substances that render the sap of the vessels so admirably adapted to the rapid multiplication of the organism; and, finally in common

with many other bacteria, the recently divided rods are actively motile, and would naturally be impelled to move in the direction of the food supply and away from the light, i. e. farther and farther into the plant. It remained to determine whether the organism would grow in the drops of fluid extruded from the water pores. For this purpose a cabbage plant was first well watered and then placed under a large bell jar in moist air. It was then placed in the cool box of a refrigerator at a temperature which would bring about saturation of the air without deposit of moisture on the plant. Under these conditions, which are similar to those occurring in the field in moderately cool moist nights, there was an abundant extrusion of water from the water pores in the form of drops which were large enough after five or six hours to be readily transferred to a sterile test tube by means of a hypodermic syringe. In the small quantity of fluid thus obtained the organism grew readily and caused it to become slightly brownish (two experiments), indicating that some portion of the substance from which the brown pigment is made filters out through the water pores.

In as much as the cabbage leaf is well protected by a waxy bloom, and, except at the margins of the leaf, is wetted only with great difficulty, the entrance of the bacteria through the stomata appears to be impossible. At least, infections through the ordinary stomata were not obtained in any of the preceding experiments. The only vulnerable part of the uninjured leaf seems to be the water pores.

No attempts were made to infect any other cruciferous plants in this way, but a few accidental marginal infections were observed in kale, some weeks after the plants were inoculated in the regular way, and it is likely that turnips and rape may also contract the disease in this way.

As usual in all my experiments of this kind, several hundred check plants were grown for purposes of comparison, and in order to have an abundance of material ready for successive inoculations in case of long continued study of the disease. All of these plants were in the same greenhouse and on the same bench as the inoculated plants, some of them close by and the remotest not more than 3 to 5 meters distant. During the four months in which I have been making inoculations, only one of these check plants has contracted the disease. This plant stood close to a dozen inoculated ones, so that its leaves touched or nearly touched the infected plants, and the infection was probably conveyed to it by slugs, the slimy traces of which were observed on its leaves some days before the symptoms appeared. There were three infections on this plant. All appeared about the same time, on two different leaves, and each one began in a water pore. The symptoms were characteristic and from the base of one of the petioles some weeks later the yellow germ was isolated in large numbers. The general freedom of the checks from this disease is attributed, first, to the care used in making the experiments, and second, to the comparative freedom of the house from slugs and other possible carriers of the disease. With plenty of slugs



present I am satisfied that it would have been impossible to keep a single one of the check plants free from the disease.

I could satisfy myself that the infectious material entered the plant through the soil neither by examination of the Baltimore turnips nor the Racine cabbages. The dissections indicated rather aerial infection. In case of the turnips the internal brown spots (or cavities) often extended for long distances up and down the roots, but in many instances these did not extend into the smaller tapering part of the root, and I could find none of them that passed out into the green leaves on the crown. Many of the brown spots stopped just short of the bases of the healthy leaves. In a few cases, by careful dissection, I was able to trace the disease to the surface of the root, at the crown just below the rosette of living leaves, where former leaves had fallen away and where the leaf traces were browned, but where subsequent growth of the root had nearly obscured the leaf scars. Furthermore, while the disease often involved the whole upper, inner part of the root, there were a few cases, in which it was restricted to one side of the central cylinder or even to a very small area on one side. The cabbage stumps illustrated these points equally well. On cross-section, in some cases, the entire vascular ring at the top of the stem close under the head was browned, while lower down the browning gradually disappeared on one or both sides. In other cases there was no browning of the vascular ring on one side, in the upper part of the stem, while cross-sections a few centimeters lower showed is distinctly on both sides, this sudden appearance of the browning being apparently the result of the entrance into the stem on that side of blackened leaf-traces. In all cases, the brown stain of the vascular system was much less pronounced in the basal part of the stem than higher up where the leaf-traces entered. The roots of these plants were abundant and sound (not rotten) and in most of them on any given plant there were no traces of the internal browning. In one plant which showed distinct symptoms in the upper part of the stem I could find no trace whatever of any disease in the roots. In other words the cabbage stumps showed a distinct lessening or fading out of the brown staining and other symptoms as the rather woody stem contracted toward the root and, as in the turnip, the indications suggested above-ground infections. In the greenhouse experiments the movement of the bacteria in the vessels was more rapid with than against the direction of the water current, the lower part of the stem and the roots being the last to become affected.

It is probable, therefore, that a majority of the natural infections in the field take place above ground, the disease being transmitted from diseased to healthy plants as the result of the visits of insects and other small animals.

It is probable also that the disease may be transmitted from field to field by way of the dung pile. (The Baltimore turnip field had been heavily dunged.) Certainly no cabbages or other plants affected by this disease should under any circumstances be thrown upon dung heaps or fed to animals if the manure is designed for use

on fields to be subsequently devoted to the cultivation of cabbages or any other cruciferous plant.

The only palliative measures which can be suggested at present are 1) The cultivation of Crucifers, as far as possible, on land not subject to this disease; 2) The prompt removal and destruction of diseased plants, something much easier accomplished in case of cabbages than of turnips where the symptoms of the disease are largely hidden; 3) A constant war upon insect enemies and other possible carriers of the disease.

(Conclusion is follow.)

---

## Zusammenfassende Uebersichten.

*Nachdruck verboten.*

### Die Reinhefe in der Weinbereitung.

Ein historischer Ueberblick.

Von

Dr. J. Behrens

in

Karlsruhe.

(Fortsetzung.)

Als wichtigstes Gesamtergebnis ergab sich, daß die spezifischen Verschiedenheiten der Heferassen auch beim Wechsel der Zusammensetzung des Gärmaterials erhalten bleiben. Das gilt auch von der Zahl der gebildeten Hefezellen. Abgesehen von der Nährfähigkeit ist diese abhängig von der spezifischen Vermehrungsfähigkeit der verwendeten Rasse, unabhängig von der Zusammensetzung des Mostes. Ebenso verhält es sich mit dem Extrakt: Die Würzburger Hefe erwies sich in Bezug auf den Extraktverbrauch als die anspruchsloseste. Dasselbe gilt von der Glycerinproduktion, die, wie zum Ueberfluß ein direkter Versuch lehrte, für den Geschmack des Weines von größter Bedeutung ist; die Würzburger Hefe schlägt darin die beiden anderen. Auch der Stickstoff- und Säuregehalt der Weine beweist, daß auch bezüglich des Stickstoff- und Säureverbrauchs spezifische Unterschiede zwischen den drei Hefen existieren. Weniger, aber immerhin noch deutlich, sind solche auch bezüglich des Aschengehaltes der Weine zu erkennen. Dagegen fehlen spezifische Unterschiede bezüglich des Alkoholgehaltes, bezüglich dessen übrigens die angewandten drei Hefen schon bei den früheren Versuchen sehr übereinstimmende Zahlen lieferten. Mit dem Nachweis, daß die einzelnen Heferassen ihre bestimmten Eigenschaften behalten auch bei wechselnder Qualität und Zusammensetzung des Mostes, den sie vergären, vereinfacht sich die Aufgabe der Hefereinzuchtstationen. Sie brauchen aus den gezüchteten Reinhefen nur eine Anzahl auszuwählen, welche die von der Praxis gewünschten oder geforderten Eigenschaften besitzen. Allerdings sind dieselben je nach der Be-

stimmung der Hefe (Weiß- und Rotwein, Schaumwein, Umgärung von Weinen u. s. f.) auch sehr verschiedenartig, insbesondere wird man aber auch in Berücksichtigung des Einflusses der Hefe auf Geschmack und Bouquet in hervorragenden Weinbaubezirken nur oder doch möglichst Hefen des Bezirks selbst wählen, um nicht Gefahr zu laufen, in den Geschmack und das Bouquet etwas Ungewohntes, Fremdartiges zu bringen.

Nur kurz erwähnen wir die Untersuchungen von Aderhold<sup>1)</sup>, in denen der Nachweis geführt wird, daß die Unterschiede, die Wortmann's Arbeiten bezüglich des Stoffwechsels zwischen den verschiedenen Heferassen festgestellt haben, auch von solchen der morphologischen Merkmale begleitet sind. Für unseren Zweck hat dieser Nachweis geringere Bedeutung.

Wir gehen zurück auf den III. Jahresbericht Müller-Thurgau's, dessen Inhalt wir zum Teil schon früher im Anschluß an Wortmann's erste grundlegende Publikation dargelegt haben, um die mit ihm eingetretene Gleichheit der Ansichten beider um die Hefefrage hoch verdienter Forscher zu demonstrieren. Müller berichtet hier über Erfolge bei der praktischen Anwendung der Reinhefen (p. 87 ff.). Dieselben erstrecken sich auf Stillweine, Obst- und Beerenweine, Schaumweine und auf die Umgärung von Weinen. Bezüglich der Stillweine, wo die schönsten ausgeprägtesten Erfolge bei Weißweinen konstatiert wurden, ergab sich außer einer rascheren Vergärung ein reinerer Geschmack und Geruch, vielfach auch eine Vermehrung und Verfeinerung des Bouquets; auch wird zum Teil eine größere Haltbarkeit des Weines gerühmt. Selbst bei hochfeinen 93er Auslesen des Rheingaus bewährte sich die reine (Steinberger) Hefe, obwohl derselben Lage entstammend, gegenüber dem Kontrollfaß. Bezüglich der Apfelweine werden Wortmann's Mitteilungen bestätigt, ebenso bezüglich der Schaumweinbereitung. Die Umgärung von Weinen, früher eine sehr prekäre Sache, gelingt durch die Anwendung von Reinhefe leicht und sicher. Auch bei der Umgärung kranker Weine bewährte sich die Reinhefe vorzüglich.

Auch Wortmann berichtet 1894 in einem auf dem Mainzer Kongreß gehaltenen Vortrage über die Erfolge der Reinhefeanwendung<sup>2)</sup>. Bezüglich der Stillweine ist die Zahl der praktischen Versuche noch recht gering, außerdem war die warme Witterung des 1893er Herbstes der Verwendung der Reinhefe möglichst ungünstig, sofern die Gärung der Maische überall auch ohne Reinhefe sehr präzise und schnell eintrat; die später zugesetzte Reinhefe konnte gegenüber der Eigenhefe nicht mehr zur Geltung gelangen. Obst- und Beerenweine gaben dagegen vorzügliche Resultate; insbesondere

1) Aderhold, Untersuchungen über reine Hefen. III. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXIII. 1894. p. 587 ff.)

2) Wortmann, Die seitherigen Erfahrungen der Praxis mit reinen Hefen und die Konsequenzen, welche sich hieraus für die Züchtung sowie für die Anwendung der Reinhefen ergeben. (Weinbau und Weinhandel. Bd. XII. 1894. No. 37 u. 38. — Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. Bd. 1894. p. 145 ff. — Bericht über die Verhandlungen des XIII. Deutschen Weinbau-Kongresses in Mainz im September 1894. Mainz 1895. p. 57 ff.)

wird vielfach der weinartige Charakter der mit Reinhefe hergestellten Apfelweine hervorgehoben, eine glänzende Bestätigung der Anschauungen Wortmann's über die Wirkung der Hefe. In der Schaumweinindustrie wurde die Anwendung der Reinhefe von den Praktikern durchweg als ein Fortschritt in der Vergärungsmethode bezeichnet. Endlich waren auch die Berichte über die Umgärung gesunder Weine durch Reinhefen ausnahmslos günstig. Kranke Weine waren mit Hefen aus der Geisenheimer Station damals noch nicht umgegoren. Auf die von Wortmann im Eingang seines Vortrages empfohlene Methode der Anwendung der Reinhefe kommen wir gleich zurück.

In der Diskussion, die sich an den Bericht Wortmann's anknüpfte, wurden von verschiedenen Seiten, von Müller-Thurgau, Schmitt und Gerlach-Wiesbaden, Becker-Frankfurt, Schnell-Trier und Nathan-Rottweil, die Erfolge der reinen Weinhefen in der Weinbereitung bestätigt.

Einige Zeit vor dem Vortrage Wortmann's schon hatte Dr. Schnell in einem Vortrage in Köln über die von ihm mit reinen Weinhefen gemachten Erfahrungen berichtet<sup>1)</sup>. Der Vortrag ist eingeleitet durch eine geschichtliche Darstellung der ganzen Frage, in der auch das Verhältnis der Ansichten Wortmann's und Müller-Thurgau's über den Einfluß der Reinhefen auf den Charakter des Weines und besonders über die Bouquetfrage dargestellt ist. Schnell hat fast ausschließlich Saar- und Moselhefen gezüchtet und an ihnen seine mit Wortmann's Resultaten übereinstimmenden Erfahrungen gesammelt. Auch seine Hefen erzielten in der Praxis ausnahmslos einen bedeutenden Erfolg, speziell was das Bouquet angeht. Doch werden merkwürdigerweise von vielen Seiten Klagen laut, daß die mit Reinhefe versetzten Moste bis zur Vollendung der ersten Gärung weit längere Zeit beanspruchten als die Kontrollmoste ohne Hefezusatz, und es bleibt ungewiß, ob das auf die Zusammensetzung der Weine, die vielleicht zu gering bemessene Quantität der zugesetzten Hefe oder auf andere Ursachen zurückzuführen ist. Seine meisten Beobachtungen sind bei Umgärungen gemacht. Doch steckt seiner Ansicht nach „der Kern der ganzen Frage unzweifelhaft in dem bis jetzt ungelösten Problem der sicheren und erfolgswissen Verwendbarmachung der Reinhefen für die ursprüngliche Gärung des Traubensaftes, die Umformung des Mostes zu Wein im Herbst; erst wenn es gelungen sein wird, Mittel zu finden, um die Reinhefen im Moste selbst trotz Eigenhefen, Bakterien, Schimmelpilzen u. u. w. zu voller und alleiniger Wirksamkeit zu bringen, wird die bedeutungsvolle Reform siegreich und unwiderstehlich ihren Einzug in die Gesamtpraxis, große und kleine, zu halten imstande sein“. Wie er dies Ziel zu erreichen hofft, darüber später.

Müller-Thurgau veröffentlichte im Jahre 1894 noch einen Aufsatz: „Die Hefe als Kulturpflanze in den Weinbergen“<sup>2)</sup>, der

1) Schnell, Erfahrungen bei der Hefereinzucht und bei der Verwendung rein-gezüchteter Hefen zur Weinvergärung. (Zeitschrift für angewandte Chemie, 1894. Heft 14.)

2) Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, 1894. p. 248. (Weinbau und Weinhandel. Bd. XII, 1894. p. 428.)

zusammenhängen dürfte mit seinen früheren Vorschlägen, mit Hilfe der gärenden Maische einer Vorlese den ganzen Herbst in prompte Gärung zu versetzen. Ausführlich und im Zusammenhange mit den wissenschaftlichen Untersuchungen über diesen Punkt ist die Sache dargestellt im IV. Jahresberichte der deutsch-schweizerischen Versuchstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau 1893/94<sup>1)</sup>. Müller-Thurgau sucht die Wirkung der Eigenhefe des Rebberges dadurch zu schwächen, daß er in den Boden des Rebberges die passende Reinhefe in Masse hineinbringt. Es geschieht das, indem die abgepreßten Trester von mit Reinhefe vergorener Maische bald nach dem Abpressen im Rebberg ausgestreut und untergehackt wird. Versuche zeigten, daß in der mit Trestern vermischten Erde zahlreiche Hefezellen ein Jahr hindurch, also bis zum nächsten Herbst, am Leben bleiben. Wird das Unterbringen der mit Reinhefe versetzten Trester von Jahr zu Jahr wiederholt, so hat man die Aussicht, die Zusammensetzung der ursprünglichen Eigenhefe des Rebberges durch Einbürgerung der Reinhefe wesentlich zu verbessern. Schon bei der Ernte ist die gewünschte kräftige Hefe in Menge auf den Trauben vorhanden und wird schon hier den anderen, ungünstiger wirkenden Hefen den Platz streitig machen; fügt man der Maische dann noch dieselbe kräftige Hefe in Reinkulturen zu, so wird die letztere von der Eigenhefe natürlich weniger ungünstig beeinflusst, ihre Wirksamkeit ist gesicherter. Versuche in der Praxis liegen noch nicht vor.

Derselbe Jahresbericht bringt weitere Mitteilungen sowohl über die Gewinnung und Vermehrung von Weinheferassen (p. 64) wie über „Eigenschaften und Verwendung der Reinhefen“ (p. 74). Bezüglich des ersten Punktes berichtet Müller-Thurgau über Erfahrungen, den Kampf ums Dasein zwischen den Heferassen betreffend, und über das darauf aufgebaute Verfahren, Reinhefen für bestimmte Zwecke zu züchten. Um z. B. Heferassen für gerbstoffreiche Getränke (Rotwein, Birnmost) zu gewinnen, wird von dem Hefegemisch aus einem gerbstoffreichen Weine ausgegangen; dasselbe wird mehrere Male in gerbstoffreichem Most umgoren, worauf erst die eigentliche Reinzüchtung stattfindet, da infolge der natürlichen Auslese dann natürlich die Hefen vorwalten werden, welche einem hohen Gerbstoff besonders angepaßt sind. Dasselbe selbstverständliche Verfahren wird übrigens auch in Geisenheim angewendet. Auch der Aufsatz über die Eigenschaften und die Verwendung der Reinhefen bringt über den ersten Punkt nichts Neues; bemerkenswert ist indes die Vorschrift zur Anwendung der Reinhefe.

Wortmann hatte die von ihm empfohlene und erprobte Methode in seinem Vortrage auf dem Mainzer Kongreß auseinandergesetzt. Die Reinzuchtstation versendet die Hefen in kleinen Fläschchen, nicht in solchen Mengen, daß sie für den Zweck ohne weiteres ausreichen würden. Nach der der Sendung beigefügten Gebrauchsanweisung hat dann der Praktiker die Hefe in geeigneter Weise selbst zu vermehren, bis selbst für die umfangreichste Verwendung die nötige

1) Zürich 1895. p. 68 ff.: Ansiedelung guter Hefen im Weinbergsboden.

Hefemenge, und zwar in kräftigster Gärthätigkeit begriffen, vorhanden ist. In dem Hefebrei, der allein zur Verwendung gelangen kann, befinden sich ja die meisten Hefezellen im ruhenden Zustande, und, wie auch Müller-Thurgau gezeigt hat, vergeht bei der Uebertragung solcher ruhender Hefe in neue Gärflüssigkeit stets einige Zeit, ehe Wachstum und Gärthätigkeit wieder aufgenommen wird. Bei direktem Zusatz der Hefe, wie sie zur Versendung an die Praxis kommt, zum Most, resp. Wein würde also eine gewisse Zeit verloren gehen, bis die Reinhefe ihre Thätigkeit beginnt, und inzwischen könnte die Eigenhefe leicht schon so überhand genommen haben, daß die erstere überhaupt gar nicht zur Wirksamkeit gelangt. Je nach dem Verwendungszweck der bezogenen Reinhefe hat der Praktiker den Inhalt der empfangenen Sendung in einigen (10—20) Litern des gekochten und dadurch sterilisierten Mostes oder (bei Umgärungen und bei der Schaumweinbereitung) in einer entsprechenden Quantität des mit Zucker versetzten, dann gekochten und dadurch vom Alkohol befreiten sowie sterilisierten Weines aufzugären. Sobald hierin lebhafte Gärung eingetreten ist, wird die gärende Flüssigkeit der Hauptmenge des zu vergärenden Mostes resp. Weines zugefügt.

Müller-Thurgau empfahl ursprünglich ein anderes Verfahren und adoptiert das Geisenheimer Verfahren erst später. Es liefert ebenfalls die Hefe in Gestalt eines flüssigen Breies, läßt denselben aber direkt der ganzen, zu vergärenden Flüssigkeit zusetzen. Bei einem Versuch im Herbst 1891 z. B. setzt er zu 600 l Most 20 ccm dickflüssiger Reinhefe<sup>1)</sup>. Auch 1894 empfiehlt er diese Methode noch. „Für Traubenweine haben unsere Untersuchungen ergeben, daß ca. 30 ccm Hefebrei von gärkräftiger Rasse als Zusatz zu 6 hl Most genügen. Es werden damit ca. 10000 Millionen Hefezellen zugeführt. Bei langsamer wachsenden Hefen ist ein entsprechend stärkerer Zusatz nötig, der auch bei den schwieriger vergärenden Obstweinen vorteilhaft ist“<sup>2)</sup>. Allerdings erwähnt und empfiehlt Müller-Thurgau in demselben Berichte auch das Auffrischen und Vermehren der Reinhefe in pasteurisiertem oder aber auch natürlichem Most, insbesondere wenn es sich um die Vergärung größerer Mostmengen oder von Obstmosten handelt, die eines größeren Hefezusatzes bedürfen. In einem auf dem Weinbau-Kongreß in Neustadt 1895 gehaltenen Vortrage<sup>3)</sup>, auf den wir später noch weiter einzugehen haben werden, empfiehlt Müller, den Zusatz der Hefe zur Maische schon im Rebberg vorzunehmen, indem man die Hefe mit den zuerst gemahlene Trauben gleich vermischt und nun den weiteren Parteen gemahlener Trauben immer von dieser Maische etwas zufügt.

Die Versuchsstation Wädensweil giebt jetzt die Reinhefen in Fläschchen zu 50 ccm ab, welche Menge für ca. 5 hl ohne Auffrischung

1) II. Jahresbericht von Wädensweil. 1893. p. 61.

2) III. Jahresbericht von Wädensweil. p. 84.

3) Müller-Thurgau, Ueber neuere Erfahrungen bei Anwendung der Reinhefen in der Weinbereitung. [Bericht über die Verhandlungen des XIV. deutschen Weinbaukongresses in Neustadt a. d. Haardt im August 1895. Mainz 1896. p. 31 bis 49.] (Weinbau und Weinhandel. Bd. XII. 1895. No. 40—42.)

genügt und etwa 50 000 Millionen lebender Hefezellen enthält. Für Obstweine sind stärkere Aussaaten empfehlenswert, ebenso bei Umgärungen kranker oder zu saurer Weine, wo außerdem eine Auffrischung und Vermehrung der Hefe vor dem Zusatz einzutreten hat. Bei der Schaumweinbereitung kann der Zusatz verringert werden, wenn dabei ausgebaute klare Weine zur Verwendung kommen. Die Vermehrung und Auffrischung der Hefe, welche im allgemeinen nur dann angezeigt ist, wenn es sich nicht um orientierende Versuche handelt, sondern wenn sich eine bestimmte Heferasse durch solche schon als bewährt erwiesen hat, und nun der Produzent zur Anwendung derselben im großen übergehen will, soll in folgender, der von Geisenheim empfohlenen Methode sich anschließenden, Weise geschehen: Ein kleines Quantum Most wird durch Erhitzen auf 60–70° C pasteurisiert, zugedeckt abkühlen gelassen und dann die Reinhefe zugefügt. Sobald derselbe heftig gärt, wird er einer größeren, frisch abgepreßten, aber nicht erwärmten Mostmenge zugesetzt, und von dieser, sobald sie in lebhafte Gärung gekommen ist, der ganze Herbst durch Zusatz von 2 l pro Hektoliter stillen Mostes in Gärung versetzt. Man sieht, wesentlich empfiehlt Müller-Thurgau die Auffrischung der von der Versuchsstation bezogenen Hefe nur aus Sparsamkeitsrücksichten.

Wortmann veröffentlichte 1895 eine Darstellung dessen, was von den Reinhefen und ihren Wirkungen auf dem Gebiete der Weinbereitung bereits bekannt war, in populärer Form und ohne den Ballast wissenschaftlicher Ausführungen für die Kreise der Praktiker<sup>1)</sup>. Für uns von Interesse ist besonders eine hier vorgeschlagene praktische Aenderung in der Terminologie. Wortmann schlägt an Stelle der früher benutzten Bezeichnungen: primäre und sekundäre Bouquetstoffe, die bezeichnenden Ausdrücke: „Traubenbouquet und Gärungsbouquet“ vor, womit unmittelbar das Unterschiedliche ihrer Entstehung hervorgehoben wird. Nur das letztere, das Gärungsbouquet, ist ein Stoffwechselprodukt der Hefe, daher von der Art der Hefe abhängig. Im übrigen betrifft Wortmann's Thätigkeit die Methoden der Heranzucht der Hefe und ihrer Verwendung für die Praxis. Zunächst wurde der Einfluß der Quantität der zugesetzten Hefe untersucht<sup>2)</sup>. Bezüglich der in der Praxis einem gegebenen Mostquantum zuzusetzenden Menge von Reinhefe sind drei Punkte zu berücksichtigen. Einmal muß die Hefemenge so groß bemessen sein, daß der Most bald in Gärung gelangt und die Eigenhefe desselben nicht oder doch möglichst wenig zur Geltung kommt. Ferner aber darf sie nicht zu groß sein, damit die Gärung nicht allzu stürmisch und die Qualität des Weines infolge des mit stürmischer Gärung verbundenen Bouquetverlustes nicht heruntergesetzt wird. Endlich erhebt sich auch die Frage, ob beim Zusatz größerer Hefe-

1) Wortmann, Anwendung und Wirkung reiner Hefen in der Weinbereitung. Berlin 1895.

2) Wortmann, Untersuchungen über den Einfluß der Hefemenge auf den Verlauf der Gärung, sowie auf die quantitativen Verhältnisse der Gärprodukte. [Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. Bd. VII. 1895. p. 65 ff.] (Weinbau und Weinhandel. Bd. XIII. 1895. No. 20–22.)

mengen der Wein nicht einen Verlust insofern erfahren würde, als mit zunehmender Menge der zugesetzten Hefe auch mehr Substanzen des Mostes, speziell des Zuckers, zur Ernährung der Hefe verbraucht werden und damit dem Wein verloren gehen dürften, womit vielleicht ein Qualitätsverlust verbunden sein könnte. Wortmann prüft diese wichtige Frage durch Impfung gleicher Mengen desselben Mostes mit verschiedenen Hefemengen, Beobachtung des Gärverlaufs und Analyse des Gärproduktes. Bezüglich des Gärverlaufs ergab sich, wie vorausszusehen, daß die Gärung um so eher eintritt, um so stürmischer verläuft und um so eher aufhört, je größer der Hefezusatz bemessen war. Wie sie aber auch verläuft, die Gesamtmenge der gebildeten Kohlensäure ist immer gleich, vorausgesetzt, daß die Gärung überhaupt zu Ende geführt wird. Die Analyse der Gärprodukte ergab allerdings Unterschiede, die sogar zum Teil gewisse Gesetzmäßigkeiten aufweisen. So nimmt insbesondere der Alkoholgehalt des Gärproduktes mit größerem Hefezusatz regelmäßig ab, ebenso der Säuregehalt. Indessen bewegen sich die Zahlen in so engen Grenzen, daß Wortmann den Schluß zieht: Aus einem gegebenen Moste erzeugt eine bestimmte Heferasse immer das nämliche Gärprodukt, gleichgültig, in welchen Mengen sie in den Most gelangte, und ob demzufolge die Gärung stürmisch oder langsam verlief. Ein zu großer Zusatz von Hefe ist demnach nur deshalb zu vermeiden, weil der Bouquetverlust infolge der stark entweichenden Kohlensäure leicht die Qualität des Weines benachteiligen könnte.

Die zweite Arbeit Wortmann's hat die Methode der Heranzucht der Reinhefe für die Praxis zum Gegenstande<sup>1)</sup>. Delbrück hatte aus seinen Untersuchungen den Schluß gezogen, daß die unter Lüftung erzogene Hefe an Gärkraft gegenüber der ungelüfteten eingebüßt hatte. Da die Lüftung eine wesentlich höhere Ausbeute an Hefe zur Folge hat, für Hefereinzuchtinstitute die Hefezüchtung in durchlüftetem Most also sehr nahe liegt, wurde die Frage untersucht. In denselben Quantitäten eines Mostes wurde (Scharzhofberger) Reinhefe herangezogen, teils mit, teils ohne Durchlüftung und Ersatz des vergorenen Mostes durch frischen. Die Hefeaussbeute war natürlich in dem Versuche, wo der Most erneuert und zugleich durchlüftet wurde, am größten, schon geringer dort, wo nicht gelüftet, aber der vergorene Most immer wieder erneuert wurde, weitaus am geringsten, wo weder Lüftung noch Mosterneuerung stattfand. Als nun mit den drei auf so verschiedene Weise herangezogenen Hefen ein Most vergoren wurde, erwies sich das Gärprodukt als ganz identisch, und auch der Gärverlauf zeigte eine weitgehende Uebereinstimmung. Der physiologische Charakter der Hefe wird also durch Lüftung nicht verändert. Für die Zwecke der Praxis erscheint indes die Lüftung deshalb bedenklich, weil die gelüftete Hefe auffallend schlecht ernährt und plasmaarm ist, wie die mikroskopische Untersuchung lehrt. Dieser schlechte Ernährungszustand ist unbedenklich, wenn die Hefe

1) Wortmann, Untersuchungen über den Einfluß des Lüftens sowie der dauernden Gärthätigkeit auf den Charakter der Hefen. [Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. Bd. VII. 1895. p. 107.] (Weinbau und Weinhandel. Bd. XIII. 1895. No. 25—27.)



in eine sterile Gärflüssigkeit kommt, wo ihr der Kampf ums Dasein nicht von anderen Organismen erschwert wird; er wird aber bedenklich in der Praxis der Weinbereitung, wo teils die Eigenhefe und die übrigen Organismen des Mostes, teils, wie bei der Schaumweinbereitung und der Umgärung und Durchgärung von Weinen gewisse die Lebensthätigkeit der Hefe beeinträchtigende Stoffe, besonders der Alkohol, die Entwicklung der zugesetzten Reinhefe in größerem oder geringerem Grade hemmen können. Da ist eine größere Widerstandsfähigkeit, also kräftiger Ernährungszustand des Hefematerials, wünschenswert.

Wie im Vorjahre auf dem Kongreß zu Mainz Wortmann, so berichtet 1895 auf dem Kongreß in Neustadt Müller-Thurgau über die in der Praxis mit Reinhefe gemachten Erfahrungen<sup>1)</sup>. Der Vortrag schließt sich dem Wortmann's vollständig an. Ueberaus groß ist die Zahl der günstigen Erfolge bei Weißwein; hervorgehoben wird insbesondere die frühere Entwicklung der mit Reinhefe vergorenen Moste und die günstige Einwirkung der Reinhefen auf das Bouquet. Hier ist also vollständige Uebereinstimmung mit Wortmann erzielt. Auch wird bestätigt, daß verschiedene Heferassen aus demselben Most Weine mit verschiedenem Säuregehalt erzeugen; doch ist die Eigenschaft einer Reinhefe, die Säure des Weines zu verbrauchen, nicht konstant, sondern hängt von den Umständen (Art der Säure, Ernährungsverhältnisse der Hefe) ab. Weniger zahlreich und weniger günstig waren die Erfolge der Wädensweiler Anstalt mit Reinhefen bei Rotweingärung, was auf die Verwendung von in Weißwein bewährten Heferassen zurückzuführen ist, die in Rotwein weniger gut gedeihen. Müller ist deshalb, was Wortmann schon früher gethan hat, jetzt zur Züchtung eigener Rotweinhaefen aus Rotweinmaischen übergegangen. Ebenso günstig wie Wortmann äußert sich Müller über die Erfolge der Reinhefen bei der Schaumweinbereitung, bei Nachgärung und bei Umgärung von Weinen sowie bei der Obst- und Beerenweinbereitung. Müller empfiehlt insbesondere die Verwendung von geeigneter Reinhefe bei einer Nachgärung, welche nur den Zweck hat, dem ausgebauten Wein, falls er an Kohlensäure verloren hat, solche wieder zuzuführen. Dem klaren Wein wird pro Hektoliter neben der Hefe eine konzentrierte Lösung von 200—300 g Zucker zugefügt, worauf sich eine Glanzgärung einstellt, bei der der Wein hell bleibt und sich mit Kohlensäure sättigt. Der Wein wird dadurch frischer schmeckend und gewinnt Schutz gegen die Gefahren der Kahl- und Essigpilze. Ein Ausbleiben des Erfolges bei Reinhefezusatz erklärt sich durch Verwendung zu alter oder zu schwacher Hefe, durch zu späten oder zu gering bemessenen Zusatz. Auf die in dieser Beziehung von Müller gegebene Vorschrift sind wir schon früher eingegangen. Mißerfolge waren zurückzuführen in erster Linie auf Verwendung unreiner oder unrichtig ausgewählter Hefen, auf Nichtberücksichtigung

1) Müller-Thurgau, Ueber neuere Erfahrungen bei Anwendung der Reinhefen in der Weinbereitung. (Bericht über die Verhandlungen des XIV. deutschen Weinbau-Kongresses in Neustadt a. d. Haardt im August 1895. Mainz 1896. p. 30—49. — Weinbau und Weinhandel. Bd. XIII. 1895. No. 40—42. Auszugsweise auch im V. Jahresbericht etc. Wädensweil 1896. p. 83.)

des Umstandes, daß die mit Reinhefe vergorenen Weine viel früher fertig werden, deshalb eher abgestochen werden müssen, als der spontanen Gärung überlassene; endlich wurde als Nachteil der Reinhefe vielfach die Veränderung des gewohnten Weincharakters angeführt, etwas, worauf Wortmann schon 1892 als auf eine Gefahr aufmerksam machte, wenn man bei Vergärung von Mosten in Qualitätsgegenden nicht beimische, sondern fremde Hefen anwenden würde<sup>1)</sup>. Endlich berührt Müller kurz seine früher referierten Vorschläge, betreffend die Ansiedelung guter Hefen im Weinsbergsboden.

Die Jahresberichte der kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Geisenheim, sowie der deutsch-schweizerischen Schule und Versuchsstation für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil und die Fachzeitschriften bieten zahlreiche Beispiele aus der Praxis für die günstigen Erfolge, welche mit dem Reinhefezusatz erzielt sind. Auf die Einzelheiten können wir nicht eingehen. Nur kurz berühren wir „ein sehr beachtenswertes Ergebnis von vergleichenden praktischen Versuchen unter Anwendung von Reinhefe“, über welches Dahlen berichtet<sup>2)</sup>. Es handelt sich um einen Most aus italienischen weißen Trauben, von dem acht Parteen von je 300 l mit je einer anderen Hefe vergoren wurden, eine darunter mit Eigenhefe. Bei der Kostprobe wurde von den fünf Probanden die benutzte Hefe fast in allen Fällen richtig erraten nach dem Geschmack und dem Bouquet. Eine andere derartige Mitteilung<sup>3)</sup> ist bemerkenswert, weil in ihr eine naheliegende, bisher aber nicht gemachte Verwendung der Reinhefe mit dem besten Erfolge zur Ausführung kam: Reinhefe wurde zum Vergären des Brennobstes (Kirschen, Pflaumen, Mirabellen) benutzt und dadurch eine wesentlich (um 17 Proz.) erhöhte Ausbeute an gebranntem Wasser erzielt.

(Schluß folgt.)

## Referate.

**Delage, Yves, La structure de protoplasma et les théories sur l'hérédité et les grands problèmes de la biologie générale.** 8°. XIV, 879 p. Paris (C. Reinwald et Cie.) 1895.

Dieses Werk, welches eine kritische Darstellung der modernen biologischen Theorien bringt, hat nicht seines gleichen in der deutschen Litteratur. Vor ungefähr einem Jahre hatte es von seiten Weismann's eine empfehlende Anerkennung gefunden und wird sich noch viele neue Freunde erwerben. In der hier gebotenen Uebersicht

1) Wortmann, Einige Bemerkungen über die Vergärung von Mosten mit rein gezüchteter Hefe. (Weinbau und Weinhandel. Bd. X. 1892. p. 287.) Weiteres über die Vergärung von Mosten mit rein gezüchteten Hefen. (Ibid. p. 510.)

2) Weinbau und Weinhandel. Bd. XIII. 1895. p. 262.

3) Hoffmann, Einiges über Vergären von Elsässer sowie von Lothringer Mosten mit Reinhefe. (Weinbau u. Weinhandel. Bd. XIII. 1895. p. 289.)

werden die biologischen Wissenschaften im engeren Sinne des Wortes verstanden, und die Medizin und Bakteriologie von der Betrachtung ausgeschlossen. Trotzdem bietet das Werk eine so große Zahl von Anknüpfungen an die 2 eben genannten Wissensgebiete, daß eine Besprechung desselben in dieser Zeitschrift notwendig erscheint.

Auf ca. 250 Seiten führt uns Verf. in eingehender klarer Weise die moderne Zelltheorie vor Augen, denn es genüge heutzutage nicht mehr, Naturforscher zu sein, um all die verwickelten Phasen des Zellstudiums zu kennen. Die Konstitution der Zelle, ihre Physiologie und Reproduktion wird hier, durch zahlreiche Abbildungen erläutert, dargestellt. Es sind die Zelle, das Individuum und die Rasse, „die 3 großen Etappen der fortschreitenden Komplikation, an welche die großen Probleme der allgemeinen Biologie ansetzen“.

Bei der Behandlung der Theorien verfährt der Verf. in der Weise, daß er den Forschern selbst das Wort erteilt und dieser Darstellung eine kurze Kritik nachfolgen läßt. Er forscht den ersten Spuren einer bestimmten Auffassung nach, und stellt sie dann successive in ihrer Vollendung dar. Bei diesem „historischen“ Verfahren wird manche überraschende Aufklärung geboten. — Die Einteilung ist, um sie kurz zusammenzufassen, folgende: Animisten und Evolutionisten, unter denen fast kein einziger Name der neueren Zeit angehört. Die Theoretiker der modernen Wissenschaft teilen sich nach einer Neubenennung des Verf.'s in Mikromeristen und Organicisten. Zu den ersteren gehören Theoretiker, welche allgemein gesagt, Plasmateilchen als Lebenseinheiten auffassen und die verschiedenen Lebensäußerungen der Organismen auf solche zurückführen. Hier war Spencer mit seinen „physiologischen Einheiten“ bahnbrechend. In Bezug auf die Natur und Wirkungsweise dieser Lebenseinheiten gehen die Ansichten der Forscher weit auseinander, und der Ref. muß sich versagen, auf die Darstellung näher einzutreten. Eine weitere große Klasse von Theoretikern vertritt eine den Animisten, den Evolutionisten und den Mikromeristen entgegengesetzte Auffassung. Für die Organicisten resultieren das Leben, die Form des Körpers, die Eigenschaften und die Merkmale der verschiedenen Teile aus der Wechselwirkung und dem Kampfe aller Elemente. Zellen, Fasern, Gewebe, Organe wirken aufeinander ein, werden durcheinander verändert, verschaffen sich Raum und Anteil, und ergeben in diesem Mitbewerb ein Endresultat, „das den Anschein einer vorgängigen Zustimmung, einer prästabilierten Harmonie besitzt, wo nichts anderes vorhanden ist, als die Resultate unabhängiger Erscheinungen.“ Der Organicismus fängt nach dem Verf. mit Descartes (1662) an, findet seine Fortsetzung in Bichat, Claude Bernard und gelangt zu Roux (Driesch und O. Hertwig), damit aber auch zu einer so stark modifizierten Theorie, daß diese, obgleich sie immer vom gleichen Prinzip ausgeht, als eine durchaus moderne betrachtet werden kann.

Diese summarische Uebersicht giebt keine erschöpfende Ansicht von der Bedeutung der einzelnen Theorie in der Geschichte der Biologie oder von ihrem reellen Werte. Dazu gelangt man durch das Studium der Einzeldarstellungen des Verf.'s, die bei großer Ausführ-

lichkeit ein Eingehen ins einzelne aufweisen, wie es bisher in keinem ähnlichen Werke geboten war.

Am Schlusse giebt uns Verf. seine theoretischen Ansichten zu erkennen, nicht als vollständige Theorie, sondern als vorläufigen Notbehelf. In seiner „Theorie der aktuellen Ursachen“ finden wir einerseits eine stärkere Hervorhebung der bisher bekannten chemisch-physikalischen, das Leben beeinflussenden Faktoren, andererseits aber auch eine Anlehnung an den Organicismus (Roux, Driesch u. A. m.) Wir müssen uns versagen hier darauf näher einzugehen.

Maurizio (Zürich).

**Frankland, E.,** Sea-water microbes in high latitudes. (The Chemical News. Vol. LXXV. p. 1—2.)

Verf. hat nach Art der Untersuchungen von H. L. Russell, Sanfelice und E. Fischer und E. Bassenge (Centralblatt für Bakteriologie etc. Bd. XV. 1894. p. 657) mehrere Proben Seewasser, die er an der norwegischen Küste (vom 68.—70. Breitengrade) in verschiedener Entfernung vom Lande auf ihren Keimgehalt untersucht. Der zur Probeentnahme verwandte Apparat ist in den Chemical News. Bd. LXX. p. 54 beschrieben; das Zählen der Kolonien erfolgte nach 5-tägiger Inkubation bei 20° C. Von 3 untersuchten Proben Seewasser, deren Temperatur 8—9° C betrug, enthielten 2 pro Kubikcentimeter nur ca. 50 Keime, die 3. war keimfrei.

Nach Verf. sind bakteriologische Untersuchungen von Seewasser aus höheren Breiten ganz besonders geeignet, die Beziehungen zwischen Mikrobengehalt und tierischem Leben in den arktischen Gegenden klarzustellen.

Scherpe (Berlin).

**Pfeffer, W.,** Ueber die regulatorische Bildung von Diastase. (Königl. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Leipzig. 1896. Dez.)

Die Untersuchungen, über die Pfeffer berichtet, sind von Herrn Dr. Katz im botanischen Institut zu Leipzig ausgeführt worden. Als Objekte wurden *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger*, *Bacterium Megatherium* benutzt. Diese wurden in Reinkultur gezogen, welcher dann viel oder wenig Zucker oder eine andere Kohlenstoffquelle zugegeben wurde. Die Diastase wurde dadurch nachgewiesen, daß eine geringe Menge löslicher Stärke zugesetzt wurde, deren eventuelles Verschwinden mittels Jod bestimmt wurde. Der Kultur waren noch die nötigen anorganischen Salze und mit diesen auch Ammoniumnitrat zugefügt worden; für gewisse Fälle wurde Pepton oder Asparagin verwendet.

Die drei oben genannten Pilze sondern reichlich Diastase auf Stärkekleister ab, welcher dadurch verzuckert wird. Der Zucker wird dann von den Organismen als Nahrung aufgenommen. Indessen enthält die Arbeit keine Angabe darüber, in welcher Form der Zucker in den Pilzkörper übergeht, resp. wie weit die Spaltung der Stärke fortgeführt wird, ob bis zur Maltose oder noch weiter bis zur Glukose. Ein Zusatz von Zucker zu der Kultur, in der die genannten Pilze gezüchtet werden, hat zur Folge, daß die Diastaseproduktion und zwar in durchaus ungleichem Grade für die einzelnen Organismen

herabgesetzt wird. In der Kultur wird von *Penicillium glaucum* überhaupt nicht mehr Diastase abgeschieden, wenn die Lösung 15 oder selbst 10 Proz. Rohrzucker enthält, und schon bei 1,5 Proz. ist eine merkliche Veränderung des Reagens nicht zu konstatieren. Ein ähnlicher Grenzwert wurde in den Versuchen mit *Bacterium Megatherium* erhalten. Dagegen produziert *Aspergillus niger* Diastase noch bei 30 Proz. Rohrzucker, jedoch in etwas geringerem Grade.

Ein besonderes Interesse beansprucht Maltose: während Rohrzucker und Dextrose eine maximale Hemmungswirkung der Diastaseproduktion äußern, sinkt diese Wirkung für Maltose. So verschwand z. B. die Stärke in der Kultur von *Penicillium glaucum* allerdings erst nach 14 Tagen bei Zusatz von 10 Proz. Maltose; dagegen stellte *Bacterium Megatherium* schon in einer 3-proz. Maltoselösung die Enzymproduktion ein. Milchzucker wirkt auf *Penicillium* in ähnlicher Weise hemmend ein, aber auf *Bacterium Megatherium* in geringerem Grade als Maltose.

Auffällige Hemmungen wurden nicht beobachtet, als zur Kultur 3—10 Proz. Chinasäure, ferner Glycerin oder Weinsäure gesetzt wurde. Besonders wird die Diastaseproduktion bei *Aspergillus* in weit geringerem Grade durch Qualität und Quantität beeinflusst.

Bei diesen Versuchen enthielten die Kulturen als Stickstoffquelle Ammoniumnitrat, Pepton oder Asparagin. Bei Darbietung von Pepton muß für *Penicillium* der Zuckergehalt erhöht werden, um die Hemmung der Diastaseproduktion zu bewirken. Obwohl in den Versuchen die Grenzwerte nicht festgestellt wurden, so geht daraus hervor, daß die verschiedenen Organismen unter den gegebenen Bedingungen ein graduell verschiedenes Reaktionsvermögen zeigen. Dasselbe — nämlich die Hemmung der Diastaseproduktion — wird nicht etwa dadurch bedingt, daß das Nahrungsbedürfnis befriedigt wird, sondern durch die chemische Qualität der zugesetzten Körper. Es ist ferner beachtenswert, daß die intensivste Hemmung durch diejenigen Zuckerarten hervorgebracht wird, welche bei der hydrolytischen Spaltung der Stärke durch Diastase entstehen (also doch nur Maltose und Isomaltose. Anm. d. Ref.).

Unter normalen Verhältnissen wird Diastase produziert, ohne daß es einer Anregung durch Zucker oder Stärke bedarf. Diese Produktionen werden regulatorisch dadurch gelenkt, daß die Anhäufung einen bestimmten Grenzwert erreicht, worauf die Secernierung allmählich abnimmt und schließlich ganz aufhört. Wird dagegen die gebildete Diastase verbraucht oder fortgeführt, so wird von dem Organismus im ganzen mehr Diastase erzeugt.

Dieses Resultat wurde folgendermaßen erhalten: *Aspergillus* wurde auf einer Lösung kultiviert, die 10 Proz. Rohrzucker, 0,5 Proz. lösliche Stärke und 0,5 Proz. Tannin enthielt. Durch letzteres wurde die beständig secernierte Diastase gefüllt. Der Niederschlag wurde mit Alkohol behandelt und so das Tannin entfernt. Zur Kontrolle wurde *Aspergillus* ohne Tannin kultiviert und dieses erst nach Beendigung der Kultur zugesetzt. Die beiden so erhaltenen Diastasemengen wurden durch die in derselben Zeit aus

Stärke gebildeten Zuckermengen gemessen. Die Kupfermenge bei beständiger Fortnahme von Diastase aus der Kultur betrug 0,1 g Cu und ohne die beständige Fortnahme 0,06 g Cu.

Verf. meint, daß ähnliche Verhältnisse wohl vielfach auch in Bezug auf die regulatorische Produktion anderer Enzyme obwalten.

Im Anschluß an die vorstehende Abhandlung möchte Ref. noch auf einige Punkte aufmerksam machen: Die von den Pilzen abgesonderte Diastase ist natürlich nicht mit den Enzymen zu identifizieren, welche in der Gerste vorkommen. Unter anderen scheint, soweit bis jetzt die Untersuchungen reichen, die Guajacwasserstoffsuperoxydreaktion bei den Pilzen anders als wie bei den Gerstendiastasen zu verlaufen. Auf eine Verschiedenheit dieser Enzyme deutet auch die von Pfeffer hervorgehobene Verschiedenheit in der Wirkungsweise der Hemmungsreagentien für die Diastasebildung bei den verschiedenen Organismen hin. Doch kann man für die Gerstendiastasen eine ähnliche regulatorische Bildungsweise annehmen.

Zunächst fanden Brown und Morris, daß Gerstenkeimlinge, von denen das Endosperm abpräpariert war, wenig oder keine Diastase absondern, wenn ihnen Zuckerlösung als Nährquelle zur Verfügung stand.

Brown und Morris meinen, daß diese Sekretion von den Pallisadenzellen des Schildchens erfolgt; andererseits scheint sie auch im Parenchymgewebe des Schildchens stattzufinden, wofür ich Folgendes anzuführen habe:

Setzt man lebhaft wachsende Gerstenkörner einer niederen Temperatur aus, so wird das Wachstum gehemmt, und das Gewebe des Schildchens füllt sich an mit transitorischer Stärke. Läßt man solche Körner langsam eintrocknen, so schwindet diese Stärke aus den Parenchymzellen des Schildchens verhältnismäßig schnell, dagegen nur sehr langsam, wenn man solche Körner in Chloroformwasser liegen läßt. Bis auf weiteres möchte ich dies folgendermaßen deuten: Beim Eintrocknen wird Zellsaft und mit diesem auch der vorhandene Rohrzucker nach der Wurzel geleitet, wo die Verdunstung am ausgiebigsten stattfindet.

Es wird dadurch sowie durch Veratmung aus dem Schildchen Zucker fortgeführt, wodurch nach obigen Auseinandersetzungen die Diastaseproduktion gesteigert wird. Andererseits erfolgt, wenn der Wasserverlust eine gewisse Höhe erreicht hat, keine Zufuhr von Maltoselösung aus dem Endosperm zum Schildchen. (Unter normalen Umständen wird die Maltose bei ihrem Eintritt in die Pallisadenzellen sofort in Rohrzucker verwandelt.) Bei jener gesteigerten Diastasebildung tritt alsbald eine lebhafteste Stärkelösung ein. Liegen dagegen die Körner in Chloroformwasser, so wird das Plasma getötet und eine weitere Diastaseproduktion unterbleibt. Ueber diesen Gegenstand wird später noch eingehender berichtet werden. Grüß (Berlin).

**Sebellen, John, Nogle Giceringsforsög med Beersaft.**  
(Beretning fra den højere Landbrugsskole i Aas 1895—1896.  
Christiania 1897.)

Verschiedene Portionen desselben Johannisbeerensaftes versetzte

Verf. im Herbst 1895 mit Zucker und Wasser, so daß ein Gehalt von 20 Proz. Zucker und 0,6 Proz. Säure erreicht wurde. Nach dem Pasteurisieren wurde mit je einer von 6 verschiedenen rein kultivierten Hefesorten aus dem Laboratorium von Alfred Jörgensen in Kopenhagen infiziert. Durch einen zufälligen Versuchsfehler wurde die Gärung schon nach der Bildung von ca. 5 Proz. Alkohol abgebrochen. Die verschiedenen Portionen zeigten indessen bei der vergleichenden Geschmacksprobe sehr auffällige Unterschiede, die nur als spezifische Wirkungen der Gärungserreger zu erklären waren. Als die Geschmacksprobe aber später bei denselben, aber ca. 1 Jahr alten Produkten wiederholt wurde, hatte der Unterschied in der Qualität sich sehr verringert und war fast unmerkbar. — Eine erste Parallelportion wurde gleichzeitig mit den übrigen nach dem Pasteurisieren mit frisch gepflückten Johannisbeeren versetzt; es trat in den betreffenden Kolben aber nur eine starke Schimmelpilzvegetation ein; — eine achte Kontrollprobe ohne Infektion hielt sich steril.

Im Sommer 1896 wurde der beschriebene Versuch in ähnlicher Weise wiederholt, der Most aber gänzlich ausgegoren. Die Verschiedenheiten in Geschmack und Aroma waren nur ganz unbedeutend. Es scheint also hierdurch das auch bei der Traubenweingärung beobachtete Faktum bestätigt, daß die von den Gärungserregern erzeugten Aroma- und Geschmacksstoffe besonders im Anfange der Gärung stark hervortreten und sogar den vom Moste herrührenden Charakter ganz zu verdrängen vermögen, daß diese neugebildeten Aromasubstanzen aber nur geringe Beständigkeit haben und bald der Zerstörung unterliegen.

John Sebelien (Aas, Norwegen).

**Otto, R.,** Einige Beobachtungen bei der Herstellung von Heidelbeerweinen. (Proskauer Obstbauzeitung. Jahrg. II. 1897. Maiheft. p. 67—72).

Verf. hat im verflossenen Herbst und Winter bei der Herstellung und chemischen Untersuchung verschiedener Heidelbeerweine einige wohl nicht ganz uninteressante Beobachtungen gemacht, die er kurz mitteilt, während er sich eine ausführlichere Darlegung des Gegenstandes an einem anderen Orte vorbehält.

Bei der Gewinnung des Heidelbeermostes wurde für sich getrennt festgestellt und untersucht:

a) der Vorlauf, d. i. die Mostmenge, welche ohne Anwendung eines besonderen Druckes in der Kelter lediglich durch das eigene Gewicht der zerquetschten Beeren abläuft;

b) der Preßmost, d. i. die Mostmenge, welche vom Zuschichten der Kelter an und unter Anwendung des stärksten Druckes abläuft.

In dem einen Falle betrug der Zuckergehalt im Vorlauf 40,8° Oechsle bei 15° C, während der Preßmost nur 39,3° Oechsle bei 15° C zeigte. Der Gesamtsäuregehalt, berechnet als Weinsäure, betrug im Vorlauf 1,15 Proz. Säure, im Preßmost hingegen 1,43 Proz.

Es war also dieser Preßmost ganz bedeutend säurereicher, fast um 3°/100, als der Vorlauf, während letzterer hingegen bezüglich

des Zuckers 1,5° Oechsle mehr zeigte, also etwas zuckerreicher als der Preßmost war.

Der durchschnittliche Säuregehalt des Gesamtmostes würde sich also auf 12,45 ‰ stellen, eine Zahl, die noch unter dem von Barth<sup>1)</sup> angegebenen niedrigsten Säuregehalt der Heidelbeeren (13 ‰) zurückbleibt. Der Zuckergehalt des Gesamtmostes (ca. 6,1 Proz.) ist dagegen bedeutend höher als die von Barth angeführten höchsten Zuckergehalte (5,3 Proz.) für Heidelbeermoste.

Daß der Säure- und Zuckergehalt der Heidelbeeren wesentlichen Schwankungen unterliegen, welche bedingt werden durch die Zeit der Ernte und sonstigen klimatischen etc. Verhältnisse, zeigte ein anderer Fall.

Hier zeigte der Vorlauf hinsichtlich seines Zuckergehaltes bei 15° C nur 30,8 Oechsle, auch der Preßmost ergab 30,8° Oechsle, wick also gar nicht in seinem Zuckergehalt ab. Doch liegt hier ein sehr niedriger Zuckergehalt (ca. 4,5 Proz.) vor, während nach Barth der niedrigste Zuckergehalt zu 4,8 Proz. angegeben wird. Der Säuregehalt des Vorlaufes betrug 0,916 Proz., im Preßmost hingegen 0,997 Proz. Es ist also auch in diesem Falle der Preßmost bedeutend säurereicher (um 0,81 ‰) als der Vorlauf. Der mittlere Säuregehalt dieses Mostes, der sich auf 9,56 ‰ stellen würde, muß nach den obigen Daten als ein äußerst niedriger für Heidelbeeren angesehen werden.

Auch andere Säurebestimmungen in Heidelbeermosten derselben Gegend (Umgegend von Proskau, O.-S.) zeigten stets einen auffallend niedrigen Säuregehalt, zwischen 9,95 und 10,64 ‰ schwankend, während der Zuckergehalt in der Regel zwischen 6,0—7,0 Proz. lag, also ein sehr hoher war.

Man wird also nach den obigen Zahlen zur Herstellung eines guten, haltbaren Heidelbeerweines aus derartigen Mosten einmal den Säuregehalt bis auf ca. 6—7 ‰ erniedrigen, andererseits aber den Zuckergehalt bedeutend erhöhen müssen, letzteres in Anbetracht der Thatsache, daß sich aus je 1 Teil Zucker nur etwa 0,48 Teile Alkohol bilden und ein Wein von sehr geringem Alkoholgehalte fade und wenig haltbar ist.

Verf. hat sodann den Verlauf der Gärung zuckerreicher Heidelbeermoste näher verfolgt.

Von gleichen Mosten erhielt die eine Hälfte beim Beginn der Gärung als Stickstoffnahrung für die Hefe eine organische stickstoffhaltige Verbindung in Gestalt des weinsauren Ammoniums, und zwar pro 1 l Most 0,6 g krystallisiertes weinsaures Ammonium in feingepulvertem Zustande, während die andere Hälfte zunächst ohne Stickstoffzusatz blieb, jedoch später, als hier keine normale Gärung eintreten wollte, pro 1 l Most 0,2 g Chlorammonium erhielt. Auf die einzelnen Beobachtungen bezüglich des Verlaufes der Gärung kann hier nicht näher eingegangen werden, erwähnt sei nur, daß die Vergärung mittels weinsauren Ammoniums in jeder Weise bedeutend besser vor sich ging als mit Chlorammonium. Demgemäß wurde auch

1) Vergl. Barth, Die Obstweinbereitung etc. Stuttgart 1894. p. 8.



im Februar 1897 bei der Bestimmung des unvergorenen Zuckers in der Reihe mit Chlorammonium noch 2,67 Proz. Traubenzucker, in der mit weinsaurem Ammonium dagegen nur 1,04 Proz. Traubenzucker gefunden.

In einer anderen Versuchsreihe wurde der Verlauf der Gärung zwischen Chlorammonium und einer anderen stickstoffhaltigen Substanz, dem Asparagin, verfolgt. Die eine Hälfte des Mostes erhielt pro 1 l 0,2 g Chlorammonium, die andere pro 1 l 0,6 g gepulvertes, krystallisiertes Asparagin. Auch hier verlief in jeder Weise die Vergärung mit Asparagin bedeutend günstiger als mit Chlorammonium. So zeigten u. a. im Februar 1897 die mit Chlorammonium vergorenen Moste noch 3,33 Proz. Traubenzucker (in einem Falle sogar 5,17 Proz. Traubenzucker), während bei den Proben mit Asparagin der Zucker bis auf 0,88 Proz. Traubenzucker vergoren war.

Aus den Beobachtungen ergibt sich wohl mit Sicherheit:

- 1) Die zur Verwendung gekommenen Heidelbeeren und die daraus gewonnenen Moste sind durchweg säureärmer, aber dafür meist zuckerreicher, als die bisher vorliegenden Zahlen angeben.
- 2) Ohne Zusatz von Stickstoffverbindungen als Nahrungsmittel für die Hefepilze dürfte es kaum gelingen, einen Heidelbeermost normal zu vergären.
- 3) Von den geprüften Stickstoffverbindungen hat sich hinsichtlich der Vergärung am besten bewiesen das Asparagin (pro 1 l 0,6 g), ihm steht sehr nahe in dieser Eigenschaft das weinsaure Ammonium (pro 1 l 0,6 g), weniger gut war die Vergärung mit Chlorammonium (pro 1 l 0,2 g).

Ob sich nun allerdings Asparagin für Vergärungen im großen Maßstabe eignen wird, muß hinsichtlich des Preises dieser Verbindung dahingestellt bleiben. Es würden nötig sein pro 1 hl 60 g Asparagin im Preise von M. 4,80, dagegen 60 g weinsaures Ammonium pro 1 hl im Preise von 60 Pf. Vom Chlorammonium kostet das Kilogramm nur 90 Pf. (Die weiteren Einzelheiten müssen aus dem Originale ersehen werden.)

Otto (Proskau).

**Sanguinetti, J.**, Contribution à l'étude de l'Amylomyces Rouxii de la levure chinoise et des moisissures fermentés de l'amidon. (Annales de l'Institut Pasteur. Tome XI. No. 3.)

Unter den mannigfaltigen Hefearten, welche die Eigenschaft besitzen, Stärke zu verzuckern und zu vergären, haben hauptsächlich drei Species das Interesse des Verf.'s in Anspruch genommen. Das war Amylomyces Rouxii, zuerst von Calmette beschrieben und von Constantin in die Reihe der Mucors eingereiht, dann Aspergillus Orizae und Mucor alternans. Die Wirkung dieser Hefearten wurde auf verschiedenen Nährböden studiert, hauptsächlich in Nährböden folgender Zusammensetzung:

Hefenwasser + Stärke	Gerstenmalzgelatine
„ + Dextrin	Roggenmalzgelatine
„ + Zucker	Maismalzgelatine

sämtlich bei einer Temperatur von 30°. Die in diesen und noch

anderen Nährböden durch die betreffenden Hefearten erfolgte Umsetzung veranlaßt den Verf., folgende Schlußfolgerungen zu ziehen:

1) Diese drei Mucidineen besitzen eine stark zuckererzeugende Eigenschaft, dieselbe ist am stärksten bei *Orizae* ausgebildet, dann folgt *Amylomyces*, zuletzt *Mucor*.

2) Bei einem und demselben Alter der Kulturen hinterläßt *Amylomyces* in den untersuchten Nährböden die relativ größte Menge unzersetzter Kohlehydrate, durch seine geringe oxydative Wirkung den anderen Hefearten gegenüber bedingt.

3) *Amylomyces* besitzt die größte alkoholerzeugende Eigenschaft, dieselbe steht aber im direkten Verhältnis mit dem Alter der Kultur resp. seiner Wirkungsdauer (in den ersten Tagen der Entwicklung ist die durch *Amylomyces* verursachte Alkoholbildung eine geringere, wie bei den beiden anderen); dank seiner relativ kleinen oxydativen Macht eignet sich *Amylomyces* zur Vergärung stärkehaltiger Substanzen in der Großindustrie. Die eingehende diesbezügliche Untersuchung wird in der nächsten Zeit veröffentlicht.

Robertson (Prag).

Schlewew, O., Ueber Saké, das Nationalgetränk der Japaner und die bei seiner Bereitung wirksamen Pilze. (Beilage z. Jahresber. d. evangel. Realschule I. Ostern 1897. Bd. XVIII. p. 4. Breslau 1897.)

In der auf Anregung und im Institute von Ferdinand Cohn ausgeführten Arbeit bespricht Verf. zunächst die einzelnen bei der Saké-Darstellung üblichen Verfahrsweisen und erörtert sodann die eignen mit dem Pilz des Koji angestellten Versuche, welche sich in der Hauptsache um die im Laufe der Zeit mehrfach ventilierte Frage drehen, ob die bei der Sakégärung thätigen Hefen Sproßformen des *Aspergillus* oder selbständige Organismen sind.

Es existieren hier bekanntlich zwei Auffassungen, von denen freilich die eine zur Zeit als abgethan gelten kann. Sie ist auch nie bewiesen worden und stützte sich im wesentlichen auf bloße Vermutungen. Es war bekanntlich Korschelt, welcher in einer grundlegenden Arbeit über die Sakébrauerei zuerst die Meinung aussprach, daß die Sakéhefe vom *Aspergillus Oryzae* abstamme, aber in richtiger Weise gleichzeitig erklärte, einen Beweis dafür nicht liefern zu können. Diesen exakten Beweis sind auch seine Nachfolger vollständig schuldig geblieben; Takamine begnügte sich mit einer Wiederholung der Behauptung und J. Juhler wie Sorel zogen aus einer ziemlich beiläufigen unkritischen Beobachtung weittragende falsche Schlüsse, deren ebenso unkritische Behandlung wiederum einmal eine bedauerliche Verwirrung, insbesondere innerhalb der Lehrbuchliteratur, hervorgerufen hat.

Die zweite Aussicht — derzufolge die Hefe nichts mit dem *Aspergillus* zu schaffen habe — wurde gegenüber Korschelt bereits von F. Cohn und Büsgen vertreten. Ref. wies dann zuerst ausdrücklich darauf hin, daß auch die neuerdings erfolgte Wiederholung der alten Angaben durch nicht eine einwandsfreie

Thatsache als berechtigt erwiesen sei — Nichtbewiesenes bedarf natürlich auch keiner Widerlegung — und konstatierte in Einklang mit den zuletzt genannten das ausdrückliche Gegenteil; dem folgte eine Reihe von Veröffentlichungen in gleichem Sinne (Klöcker und Schiöning, Seiter), von denen dann eine Mitteilung (Kosai und Yabe) insofern faktisch Neues brachte, als sie positiv die Sakégärung als durch eine besondere Hefe (mit Sporenbildung) veranlaßt hinstellte. Damit ist denn endlich die Thatsache sichergestellt und die Kette der Irrtümer hoffentlich abgeschlossen.

In Hinblick hierauf ist der Standpunkt des Verf.'s nun nicht gerade ein sehr schwerer, immerhin ist es dankenswert, daß er die Frage auch bei uns einmal mit Originalmaterial (durch Miyoshi besorgt) nachprüft, zumal die ausführlichen Mitteilungen der zwei zuletzt genannten Forscher (Kosai und Yabe) noch ausstehen. Hierbei gelangt derselbe endgültig zu dem gleichen Resultate, daß also „die bei der Sakébereitung auftretende Gärung durch (eine oder mehrere Arten dem Aussaatmaterial anhaftender) Hefen bewirkt wird.“ Genaues über diese Hefen wird noch in Aussicht gestellt; zum Teil scheinen es echte Hefen zu sein (mit innerer Sporenbildung). Im übrigen weist derselbe auf die in dieser Hinsicht bestehende Verschiedenheit der aus verschiedenen Sakébrauereien erhaltenen Kojiprobe hin; im Hinblick darauf, daß die Sakégärung, wie im allgemeinen auch unsere Weingärung, offenbar eine wilde Gärung ist, erscheint das immerhin verständlich. Es bedürfen aber trotzdem wohl noch manche Punkte des japanischen Verfahrens einer teilweise nur am Orte selbst möglichen Klarstellung. So z. B. müssen bei der Art und Weise der Bereitung der Hefenmaische („Moto“), die allem Anschein nach zunächst sauer wird (Milchsäuregärung), selbst wenn dem Aussaatmaterial Hefe anhaftet notwendig auch noch Lufthefen hinzukommen, welche in schwach milchsäuren Zuckerlösungen sich bekanntlich mit großer Schnelligkeit entwickeln. Andererseits wird auch allem Anschein nach gerade auf eine fortlaufende Hefezüchtung keinerlei Gewicht gelegt. Die Gärungen sind also offenbar ziemlich unreine, wie das auch aus dem gelegentlichen vollständigen Mißlingen ja zur Genüge hervorgeht; gerade die Heranzüchtung der Hefe (im Moto) gilt dementsprechend als ein relativ schwieriger Akt. Welche Hefeform hier nun vorzugsweise zur Entwicklung kommt und dann weiterhin die Hauptgärung durchführt, bleibt immerhin wohl eine kaum allgemein zu beantwortende Frage. Es erklären sich auch wohl so die bislang bezüglich der „Sakéhefe“ vorliegenden Differenzen, indem frühere Autoren die Ähnlichkeit mit der „Bierhefe“ (Form, Größe) hervorheben, Verf. dem Anschein nach aber besonders Formen vor sich hatte, die mehr den Wein- und Obstweinhefen glichen.

Die Einzelheiten über Kulturversuche des *Aspergillus* auf verschiedenen Substraten, morphologisches Detail, sowie Versuche zur Darstellung Saké-artiger Getränke aus Reis, Kartoffeln etc. mögen im Original nachgesehen werden. Hier wären wohl insbesondere auch die Angaben über morphologische Verhältnisse des Pilzes, die

in der bisherigen Litteratur<sup>1)</sup> — trotz deren Ergiebigkeit — recht sparsam sind, von Interesse. Wehmer (Hannover).

**Sajó, Carl, Die Spargelkäfer.** (Oesterreichisches landwirtschaftliches Wochenblatt. 1897. p. 33.)

Die Spargelkäfer gehören alle in die Chrysomeliden-Gattung *Crioceris*. Von den 4 Arten haben 3 eine lebhaft orangerote Grundfarbe mit schwarzen Punkten oder Flecken; die vierte Art, wohl die gemeinste, ist von erzblauer Grundfarbe.

1) Der stahlblaue Spargelkäfer (*Crioceris asparagi* L.) ist äußerst gemein, sehr schlank und 5,5—6 mm lang. Sein Kopf ist schwarz, das Halsschild rot. Die Flügeldecken sind erzblau, mit blutrotem Rande; auf jeder derselben viereckige, gelblich-weiße Flecke, die mit der erzblauen Grundfarbe wie die Felder des Schachbrettes abwechseln.

2) Der 12-punktige Spargelkäfer (*C. duodecimpunctata* L.). Ebenfalls 5,5—6 mm lang, aber breiter gebaut als der vorige. Auf jeder der Flügeldecken 6 schwarze Punkte, Halsschild einförmig orangerot, ohne schwarze Punkte. Grundfarbe des ganzen Körpers lebhaft orangerot, Füße schwarz gescheckt.

Beide Arten sind im nördlichen und mittleren Europa beinahe überall verbreitet, wo Spargel kultiviert wird. Die 2 folgenden Arten sind beschränkter verbreitet.

3) Der 14-punktige Spargelkäfer (*C. quatuordecimpunctata* Scop.). Der vorigen Art sehr ähnlich. Auf jeder Flügeldecke sind 7 schwarze Punkte, wovon die hintersten 2 meistens mit einander verbunden sind. Bei dieser Art ist auch das Halsschild mit schwarzen Punkten versehen.

4) Der 5-punktige Spargelkäfer (*C. quinquepunctata* Scop.). Orangegefärbt, auf jeder Flügeldecke ein schwarzer Fleck bei der Schulter und ein anderer, grösserer, nahe dem Hinterende vorhanden. Außerdem ist ein beiden Flügeldecken gemeinsamer großer Fleck an der Naht, wo die Flügeldecken zusammentreffen, etwas vor der Mitte zu sehen. Dieser Käfer gehört zu den Seltenheiten, doch hat er einmal in Ober-Ungarn eine Spargelanlage zu Grunde gerichtet.

Die größten Verheerungen verursacht der stahlblaue und innerhalb seines engen Verbreitungsgebiets der 14-punktige Spargelkäfer, da außer dem Käfer auch dessen Larven den ganzen Sommer äußerlich am Spargellaub nagen. Der stahlblaue Spargelkäfer legt seine Eier schon früh im Jahr auf die emporschießenden Spargelstengel, die auskommenden, etwas grünlich-gelben Larven ähneln kleinen nackten Schnecken. Die vollwüchsigen Larven begeben sich in den Boden, machen sich aus der Erde einen Cocon und verwandeln sich

1) Es wäre bei Erörterungen über etwaige genetische Beziehungen zwischen Konidien und Hefezellen eine scharfe Charakterisierung des Aussehens beider doch eigentlich selbstverständlich. Obgleich es bei einiger Aufmerksamkeit nun kaum etwas Leichteres giebt, als Hefezellen von Pilzkonidien zu unterscheiden, ist dieser Umstand doch offenbar die Hauptquelle der immer wieder begangenen Irrtümer. Speziell die kritiklosen Beobachtungen und Angaben J. Juhler's sind nicht scharf genug zu verurteilen.

in eine licht orangerote Puppe, welcher nach 9—12 Tagen der Käfer entschlüpft.

Der 12-punktige Spargelkäfer hat je nach der Jahreszeit eine zweifache Lebensweise. Die erste Generation lebt äußerlich am Spargel etwa wie *C. asparagi*, während die zweite Generation in die Beeren eindringt und sich darin bis zur Vollwüchsigkeit aufhält.

Der 14-punktige Spargelkäfer gleicht in der Lebensweise dem erzblauen; seine Larven sind viel schädlicher als die des 12-punktigen, nachdem sie nur äußerlich am Spargel leben.

Der Fraß der Spargelkäfer und ihrer Larven ist äußerst schädlich, da sie das ganze Laub und von den Aesten das chlorophyllhaltige Gewebe vollkommen wegnagen; immerhin ist aber ihr Wirken minder verhängnisvoll als das der übrigen Spargelfeinde, da sie überirdisch ihr Wesen treiben und ihnen ebenso leicht beizukommen ist.

Die Spargelkäfer resp. deren Larven haben viele Feinde, wie parasitische Fliegen, Ichneumoniden und Chalcidien. Auch Bakterienkrankheiten bringen einen Teil der Larven in den Cocons noch vor der Verpuppung zum Verfaulen. Weitere Feinde sind Florfliegenlarven und Larven des Siebenpunktes.

Schließlich sei noch erwähnt, daß die Schleimpilze und namentlich die durch Debray in Algier vor kurzem aufgestellte Gattung *Pseudocommis* ohne Zweifel auch den Spargel nicht schont.

Stift (Wien).

**Wehmer, C., Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Experimentelle Untersuchungen auf dem Gebiete der Physiologie, Biologie und Morphologie pilzlicher Organismen. II. 8°. VIII u. 184 p. 3 Taf. Jena (Gustav Fischer) 1895.**

Das zweite Heft dieser Beiträge umfaßt im Gegensatze zu dem die Citronensäurebildung durch Pilze behandelnden ersten Hefte eine Anzahl inhaltlich voneinander verschiedener Arbeiten.

1) Untersuchungen über die Fruchtfäule (Obstfäule). Der Verf. untersucht besonders die Kernobstfäule von Apfel, Birne und Mispel, die Fäulnis der Apfelsinen, Citronen, Mandarinen und Orangen, die Steinobstfäule von Zwetsche und Kirsche, die Wallnußfäule und die Traubenfäule. Die bei den untersuchten Früchten nach vollendeter Reife eintretende Fäulnis wird im allgemeinen durch wenige Pilzarten hervorgerufen, die sich sehr regelmäßig längere oder kürzere Zeit vor dem unvermeidlichen definitiven Zerfall einstellen. Bei den an freier Luft aufbewahrten Obstarten begegnet man etwa in 90 Fällen unter 100 ausschließlich denselben Pilzen. Die Fäulniserreger sind bei Apfel, Birne und Mispel *Penicillium glaucum*, *Mucor piriformis* und *M. stolonifer* (?), bei Weintrauben und Wallnüssen *P. glaucum* und *Botrytis cinerea*, bei Apfelsinen und ähnlichen Früchten *P. italicum* und *P. olivaceum*, bei Zwetschen *Mucor racemosus* und *P. glaucum*, bei Kirschen *P. glaucum*. Die Fäulniserreger sind nach der Häufigkeit ihres Auftretens geordnet folgende: *P. glaucum* auf Kernobst, Steinobst, Trauben und Wallnüssen, *P. italicum* auf Südfrüchten, *Mucor*

*piriformis* auf Kernobst, *Botrytis cinerea* auf Trauben und Wallnüssen, *P. olivaceum* auf Südfrüchten, *Mucor racemosus* auf Zwetschen (*M. stolonifer* auf Äpfeln?).

Die genannten Erreger der Fruchtfäule sind Saprophyten. Sie können allerdings unter gewissen Umständen lebende pflanzliche Organe angreifen, sodaß sie deshalb pathogene Saprophyten genannt werden können und auch als fakultative Parasiten bezeichnet worden sind, obgleich ihre Lebensweise keineswegs eine parasitische ist, denn mit dem Befallen der Frucht stirbt diese ab und Vegetation wie Fruktifikation des Pilzes vollziehen sich so gut wie ausschließlich in und auf totem Gewebe.

Für *Mucor stolonifer* (*Rhizopus nigricans*) ist die Pathogenität noch nicht nachgewiesen.

Die Fäulniserreger des Obstes werden einzeln beschrieben und abgebildet.

2) Ueber die physiologische Ungleichwertigkeit der Fumar- und Malleinsäure und die antiseptische Wirkung der letzteren. Das Molekül der Malleinsäure wird wie das der mit ihr isomeren Fumarsäure, jedoch merklich träger und in der Wirkung kaum mit dieser vergleichbar, im Stoffwechsel von Bakterien und Pilzen verarbeitet, so daß ihr Kohlenstoff unter Umständen noch als Quelle für die den Organismus aufbauenden Kohlenstoffverbindungen Verwendung finden kann. Dies gilt für einige Bakterien, im ganzen weniger für Mycelpilze. Bedingung für diese auf bestimmte Fälle beschränkte und wenig ergiebige Nährfähigkeit ist jedoch, daß die Säure in einer die Lebensfähigkeit der betreffenden Organismen nicht benachteiligenden Verbindungsform und z. B. als Alkalisalze dargeboten werden. Freie Säure hingegen hemmt die Entwicklung der Bakterien und Pilze selbst in Nährlösungen, die im übrigen gut sind, von  $\frac{1}{8}$  Proz. ab und schließt sie oberhalb 2—3 Proz. ganz aus.

3) Die Nährfähigkeit von Natriumsalzen für Pilze. *Aspergillus niger* van Tiegh. und *Penicillium glaucum* Link können nutzbare Natriumsalze, wenn auch im ganzen schwieriger als nutzbare Kaliumsalze, so doch in umfangreicher Weise, im Stoffwechsel zersetzen. Die vegetative Entwicklung und die Konidienbildung erleiden durch die Natriumsalze, abgesehen von der bemerkenswerten Verzögerung, eine sehr merkliche Einbuße nicht. Die nutzbaren Salze des Natriums werden im Stoffwechsel auch ohne besondere Zugabe von solchen des Kaliums zerlegt.

4) Die auf und in Lösungen freier organischer Säuren mit Vorliebe auftretenden Pilzformen (säureliebende Pilze). In verdünnter Citronensäurelösung treten bisweilen Pilzflocken, submerse sterile Mycelien, auf, die offenbar aus Sporen entstehen, die bereits den Materialien zur Bereitung der Lösung anhängen oder nachträglich in dieselbe hineingelangten. Die Lebensverhältnisse der Pilze in solchen Lösungen sind eigentümlich. Zu der Wirkung der freien organischen Säure gesellt sich der Mangel an Nährsalzen, und insbesondere geht wohl der Stickstoffgehalt des Mediums auf verschwindende Werte herunter; weiterhin ist noch der gehemmte Luftzutritt zu beachten. Um die botanische Art der My-

celien zu ermitteln, übertrug der Verf. solche aus der etwa 3-proz. Lösung in mehrere mit Watte verschlossene Kulturkolben. Nach einigen Wochen war keine gut gekennzeichnete Konidien-bildende Decke, sondern eine die Flüssigkeit erfüllende schleimig-fädige Masse von relativ fester Beschaffenheit entstanden. Fortpflanzungsorgane fehlten anfangs; Hyphen traten über die Flüssigkeit erst nach 4—16 Wochen hervor und erzeugten Konidienträger mit einzelnen oder zu mehreren im Quirle stehenden Sterigmen, wie sie bei *Verticillium* vorkommen. Andere Reproduktionsorgane des Pilzes waren auch auf anderen Substraten nicht zu erhalten, sodaß seine systematische Stellung nicht angegeben werden kann. Die Art dürfte *V. glaucum* sein.

In den Krystallisationsgefäßen der Weinsäurefabriken werden die stark sauren, z. B. 13,3 Proz. Säure enthaltenden Lösungen der freien Weinsäure von grauen Pilzhäuten überzogen oder von schmutzigen grauen bis dunkeln Flecken durchsetzt; weil Fortpflanzungsorgane fehlen, bleibt es zweifelhaft, ob hier eine oder mehrere Arten vorliegen. In Kulturkolben entstanden auf der Nährlösung Decken mit Konidienträgern; die Art konnte jedoch nicht bestimmt werden.

Der Verf. erinnert daran, daß Essigsäurebakterien in essigsäuren Substraten einen besonders günstigen Entwicklungsboden finden, und daß der reichlich freie Oxalsäure abspaltende *Aspergillus niger* gerade gegen die Wirkung dieser Säure besonders widerstandsfähig ist.

Pilzflocken findet man nicht selten in Citronensaftlösungen, die zu Genußzwecken hergestellt werden. Sie gehören meist dem *Citromyces Pfefferianus* Wehmer an und zerstören die Citronensäure in kurzer Zeit.

Der Zusatz freier Citronensäure zu zuckerreichen Nährlösungen hat das Erscheinen des *Citromyces* und des *Penicillium luteum* zur Folge; dieselben Pilze scheinen sich auch bei Ansäuerung durch Weinsäure reichlich einzustellen, sofern man die Flüssigkeiten in größeren offenen Glasschalen der Luftinfektion zugänglich macht. Hier kommt dann überdies noch *Aspergillus niger* hinzu. Steigert man den Weinsäuregehalt auf 10—12 Proz., so kommt von diesen drei Arten nur noch *Citromyces* zur Entwicklung.

Die in Zuckerlösungen mit 0,5 Proz. Salzsäure und Malleinsäure allmählich auftretenden Pilzvegetationen gehören ebenfalls vorwiegend dem *Citromyces* an.

5) Zur Frage nach der Bedeutung von Eisenverbindungen für Pilze. Eisensalze können unter bestimmten Umständen die Entwicklung des *Aspergillus niger* beeinflussen und den Stoffumsatz anscheinend begünstigen. Dieselbe Wirkung konnte jedoch durch Einflüsse ganz anderer Art erzielt werden.

6) Ueber das Vorkommen des Champignons auf den deutschen Nordseeinseln nebst einigen Bemerkungen über die Pilzflora derselben. *Agaricus campester* L. kommt auf Helgoland (sowohl auf dem Oberlande als auch auf der im Meere gelegenen „Düne“), Norderney und Juist vor. Der Standort auf der sogen. „Düne“ war eine größere, etwas unebene, insbesondere von Gräsern bewachsene, etwa 4—6 m über dem höchsten Wasserstande liegende Fläche, die sich seitwärts an höhere Dünenbildungen anlehnte. An

organischen Stoffen enthält der durchlässige, trockene, von atmosphärischen Niederschlägen ausgewaschene Sand jedenfalls nur Spuren, die voraussichtlich aus den zerfallenden Teilen der Dünengräser stammen. Sie müssen also zur Entwicklung hinreichen; Anhaltspunkte für etwaige parasitische Lebensweise konnte der Verf. nicht finden. Auch anorganische Salze, wesentlich Chlornatrium, nimmt der Pilz in gentigender Menge auf; die zerkleinerten Stielteile blühen beim Eintrocknen aus. E. Knoblauch (Gießen).

**Prunet, A.**, Les formes de conservation et d'invasion du parasite du black-rot (*Carlia Bidwellii* O. Kuntze, *Guignardia Bidwellii* (P. Viala und L. Ravaz). (Compt. rend. d. l'acad. d. sciences. 1896. No. 12. p. 739 ff. Sem. I.)

Nach Ansicht des Verf.'s sind die Pykniden dieses Pilzes mit Unrecht als Organe der Erhaltung angesehen worden. Die im Inneren der Pykniden gebildeten Sporen werden von einem Magma eingehüllt, welches bei der Berührung mit Wasser oder in feuchter Luft bedeutend anschwillt und infolge dessen unter Mitnahme der Sporen aus der Oeffnung der Pyknide austritt. Die Bedingungen hierzu sind in der Zeit von August bis zum April oft gegeben. — Andererseits sind die den Pykniden entschlüpften, auf der Oberfläche der Trauben verbliebenen oder in den Erdboden gelangten Sporen aus verschiedenen Gründen nicht geeignet die Erhaltung des Parasiten zu sichern. Diese Sporen keimen schnell und schon bei ziemlich niedriger Temperatur im Wasser und in feuchter Luft. Infolgedessen hat der größte Teil derselben seit dem Herbste bereits gekeimt und ist für die Reproduktion des Parasiten verloren.

Sollten einige dieser Sporen der Keimung entgehen, so ist es doch zweifelhaft, ob sie zur Zeit des Treibens der Reben zum Keimen noch fähig sind.

Im Juli 1895 auf Blättern und Früchten gefundene und im Laboratorium aufbewahrte Pyknidensporen hatten schon am 20. Februar 1896 ihre Keimkraft verloren.

Die Pykniden sind demnach nicht als den Winter überdauernde Organe des Pilzes anzusehen. Die einzigen normalen Organe dieser Art sind die Sklerotien, welche sich in großer Zahl an der Oberfläche der vom Black Rot befallenen Teile zeigen, wo sie mehr oder weniger dicht zusammengedrängte schwarze Pusteln bilden.

Der Black-Rot-Pilz überdauert demnach den Winter ausschließlich in der Form von Sklerotien, welche im Frühjahr Invasionsapparate liefern, die nicht nur Konidienträger und Perithezien, sondern auch Pykniden und Spermogonien sein können. Hieraus ergibt sich, daß die Zerstörung der Sklerotien für die Bekämpfung des Pilzes noch wichtiger ist, als man bisher annahm, und daß die Verbrennung der vom Black Rot befallenen Trauben die notwendige Ergänzung jeden rationellen Verfahrens zur Bekämpfung des genannten Uebels bilden muß. Moritz (Berlin).

**Aderhold, Rud.**, Ueber den Vermehrungspilz, sein Leben und seine Bekämpfung. [Aus der botanischen Abteilung der



Versuchsstation am kgl. pomologischen Institut zu Proskau.] (Sep.-aus „Gartenflora.“ 1897. p. 114 ff.)

Der „Vermehrungsschimmel“, jedem Gärtner aus trauriger Erfahrung in seinen schlimmen Wirkungen bekannt, ist von den Phytopathologen bisher mehr als stiefmütterlich behandelt. Die vorliegende Mitteilung Aderhold's, dessen Untersuchungen leider aus Mangel an Material vorzeitig abgebrochen werden mußten, giebt die ersten genaueren Angaben über den gefürchteten Feind der Vermehrung.

Danach ist derselbe ein Hyphomycet, dessen Fäden sehr schnell wachsen und sich durch Erde, Luft und Wasser verbreiten. Auf allerlei Pflanzenteilen (Blättern der verschiedensten Pflanzen), die Verf. auf Wasser schwimmen ließ, gezogen, bildete der Pilz Büschel, die ins Wasser hinunterhingen und aus Reihen kurzer, tonnenförmiger bis kugelliger Zellen, ähnlich den Chlamydosporen-Reihen des *Oidium fructigenum* des Kern- und Steinobstes, bestanden. Hin und wieder brachen diese Zellreihen auch auseinander und fielen dann auf den Boden des Wasserbehälters. Sowohl Mycelpartieen wie solche Sporen vermochten die Krankheit zu verbreiten. Wurden gesunde Blättchen (z. B. Himbeere) auf Wasser schwimmend, infiziert, so trieben aufgelegte Mycelteile sofort, aufgebrachte Sporen erst nach vorherigem Eintrocknen des Tropfens, in dem sie übertragen waren, Lufthyphen, die über das Blatt hinwegwuchsen, ohne zunächst einzudringen; dann starb das Blatt vom Rande her ab, und in die toten Stellen drang das Mycel ein, bald das verjauchende Blättchen ganz durchwuchernd und einen Hof um dasselbe bildend. Ungeimpfte Kontrollblättchen blieben gesund.

Da im Gießwasser der Gärtnereien wohl nie schwimmende und modernde Pflanzenteile fehlen, der Pilz dort also die Möglichkeit des Gedeihens findet, ist gewiß in manchen Fällen das Gießwasser am Auftreten und der Weiterverbreitung des Pilzes in den Betrieben schuld. Außerdem aber kann man den lästigen Gast auch mit der Erde und dem Sande verbreiten, welche er dort, wo er auftritt, ganz durchwächst. Versuche mit *Ampelopsis*-Stecklingen bestätigten diese Annahme, und solche mit Fuchsien zeigten, daß einfaches Trocknen des verpilzten Sandes das Mycel keineswegs tötet. Dagegen gelingt es, durch Trockenhalten der Kulturen den Pilz in bescheidenen Grenzen zu halten, und wenn dies Mittel natürlich in Stecklingskulturen auch nicht anwendbar ist, so sind doch bewurzelte ältere Pflanzen nur dadurch gegen die Angriffe des Vermehrungsschimmels geschützt. Versuche zeigten endlich, daß der Pilz auch ins Holz der Kästen eindringt, wenn er auch nicht oder nur kümmerlich auf Kosten des Holzes zu gedeihen vermag, und daß er daraus nicht durch einfaches Abwaschen zu entfernen ist.

In den Kulturen des Pilzes, seltener auch an den Stecklingstöpfen, zeigten sich kleine bis höchstens erbsengroße schwarze Körper, Sklerotien sehr ähnlich, aber ohne Differenzierung in Mark und Rindenschicht und nur aus braunen, weitlumigen Hyphen bestehend, oft mit einzelnen, dicht mit Oeltröpfchen erfüllten Zellen. Sie entstehen wie die Haftorgane von *Botrytis cinerea*, stellen aber zugleich Dauerzustände des Pilzes vor, wie sich bei der Kultur solcher

2 $\frac{1}{2}$  Monat trocken aufbewahrter Gebilde ergab. Echte Sklerotien, 4 an der Zahl, fand Aderhold nur einmal im Blattgewebe eines vom Pilz getöteten Fuch sienstecklings, konnte sie aber bisher nicht zum Keimen bringen.

Insbesondere wegen des Auftreten der Haftorgane ist Aderhold geneigt anzunehmen, daß es sich bei dem „Vermehrungsschimmel“ um eine *Sclerotinia* handelt, die allerdings von den bisher bekannten jedenfalls verschieden ist. Möge es dem Verf. vergönnt sein, seine Untersuchungen über den interessanten Pilz bald wieder aufzunehmen und zu einem allseitig befriedigenden Abschluß zu führen.

Behrens (Karlsruhe).

**Aderhold, Rud.,** Revision der Species *Venturia chlorospora*, *inaequalis* und *ditricha* autorum. [Aus der botanischen Abteilung der Versuchsstation des Kgl. Pomologischen Institutes zu Proskau.] (*Hedwigia* Bd. XXXVI. 1897. p. 67 ff.)

Im Anschluß an die jüngst besprochenen Untersuchungen über die Fusicladien der Obstbäume, deren Zugehörigkeit zu Venturien dort nachgewiesen wurde, hat Verf. sich mit den unter obigen Namen gehenden Species der Gattung *Venturia* näher beschäftigt und ist dabei zu Resultaten gekommen, welche dem bisher herrschenden Wirrwarr in der Umgrenzung dieser Species, der in einem historischen Rückblick des Verf.'s hervortritt, ein willkommenes Ende machen.

Er untersuchte die Venturien des Birnbaums, des Apfels, des Weißdorns, der Sorbus-Arten, der Esche, der Weide, der Zitterpappel und der Birke und weist bei allen Konidienformen der Gattung *Fusicladium* nach mit Ausnahme von *Venturia tremulae*, für welche die Zugehörigkeit von *Fusicladium* (*Napicladium*) *tremulae* Frk. nur wahrscheinlich gemacht wird. Gute Unterscheidungsmerkmale bietet die Lage der Scheidewand in den Ascosporen, welche aus zwei ungleich großen Zellen bestehen, und die Gestalt der Konidienträger. Bezüglich des Näheren sei auf das Original verwiesen. Aderhold unterscheidet jetzt folgende Arten: *Venturia ditricha* (Fries) Karsten mit *Fusicladium betulae* Ad. auf Birkenblättern. *Venturia pirina* Ad. mit *Fusicladium pirinum* (Lib.) Fckl. auf Birnbäumen. *Venturia tremulae* n. spec. mit *F. tremulae* Frk. auf Zitterpappel-Blättern. *Venturia inaequalis* (Cooke) Ad. mit *F. dendriticum* (Wall.) Fckl. auf Apfelbäumen. *Venturia chlorospora* (Ces.) Ad. mit *F. ramulosum* Rostr. auf Salix-Blättern. *Venturia fraxini* n. spec. mit *F. fraxini* n. sp. auf Eschenblättern.

Bei allen Formen sind nur die Fusicladien parasitisch; die Venturien entstehen erst auf den toten Blättern im Frühjahr und Sommer. Interessant sind besonders einige vom Verf. mitgeteilte Beobachtungen über die Biologie dieser Pilze.

Schon in der Arbeit über die Fusicladien der Obstbäume hatte sich gezeigt, daß immer nur ein Teil der Impfversuche gelang. Es ist Aderhold gelungen, die Ursache dieses Verhaltens klarzulegen. Wenn nämlich die Ascosporen im Frühjahr ejakuliert werden und so auf die jungen Blätter gelangen, keimen sie allerdings größtenteils so-

fort aus, bringen es aber vielfach nur bis zur Bildung eines Haftorgans (Appressoriums) und verankern sich auf diese Weise auf den Blättern. Eine weitere Entwicklung scheint dann erst und dann nur einzutreten, wenn günstige Bedingungen für die Entwicklung der Fusicladien eintreten. Leider hat Verf. das Erwachen der Sporen aus diesem Zustande der Ruhe nicht direkt beobachtet, aber viele eigentümliche Thatsachen erklären sich durch die obige sehr wahrscheinliche Annahme. So beobachtete Aderhold die Fusicladien der Birke und der Esche immer erst vom August an, obwohl die Perithezien sich seit Mai entleerten, und bei den Infektionsversuchen kam es z. B. vor, daß eine Anfang Juni vorgenommene Infektion von *Fusicladium pirinum* auf ein im Glashaus gehaltenes Birnbäumchen zunächst scheinbar erfolglos blieb, bis plötzlich Ende August *Fusicladium*-Räschen auf den Blättern erschienen. Mit dem Tode des Blattes im Herbst scheint das Erwachen der verankerten Sporen und das Eindringen des Pilzes ins Blatt allgemein einzutreten; er bildet dann aber keine Konidien mehr, die *Fusicladium*-"Generation" wird einfach übersprungen. So erklärt sich z. B. der Umstand, daß *Venturia chlorospora* auf toten Weidenblättern gar nicht selten gefunden wurde, während nie eine Spur der *Fusicladium ramulosum* zu entdecken war.

Behrens (Karlsruhe).

Cleslar, A., Ueber das Auftreten des Hallimasch (*Agaricus melleus* Vahl) in Laubholzwäldungen. [Mitteilungen der k. k. Versuchsanstalt in Mariabrunn.] (Centralbl. für das gesamte Forstwesen. Bd. XXII. 1896. p. 19—26. Mit 4 Abb.)

In den Auwäldungen des Ueberschwemmungsgebietes der March bei Jaroschau veranlaßte *Agaricus melleus* bedenkliche Eingänge besonders an Ulmen, Weiden und Pappeln, aber auch von Esche und Eiche und in einem Gebirgsforste bei Ungarisch-Hradisch an Birken und Linden. Die Bäume beginnen zunächst im Gipfel an den Zweigspitzen dürr zu werden, die Aeste vertrocknen sodann, und im Laufe einer Vegetationsperiode ist der Tod eingetreten. Neben den Rhizomorphen und Fruchtkörpern des *Agaricus melleus* fanden sich als sekundäre Erscheinungen auch die Fruchtkörper von *Agaricus velutipes* Curt, welcher indes keine Rhizomorphen bildet und nur saprophytisch an absterbenden oder toten Bäumen auftritt.

Die zahlreichen, oft mächtigen Rhizomorphenstränge, die sich um einen solchen Baum finden, dringen zwischen die Borkenschuppen der Baumwurzeln ein und breiten sich hier zu weißen, fächerförmigen Mycelüberzügen aus; das weitere Wachstum derselben in das lebende Gewebe der Rinde wird durch die Ausbildung einer schützenden Peridermschicht verhindert. Die Infektion des Baumes erfolgt durch Wunden, welche in den genannten Auwäldungen beim Fällen der Stockausschläge, durch Insektenfraßstellen (*Cerambyciden*larven, Engerlinge etc.) oder durch Treibeis etc. hervorgerufen sind, und ferner auch durch das Uebergreifen des Mycels von infizierten Wurzeln auf solche, die mit ihnen verwachsen sind.

Die Mycelien und Pilzstränge wachsen ferner zwischen Rinde und Holz weiter, bräunen das Cambium und trennen Holz und

Rinde. Diese Rhizomorpha subcorticalis, welche sich am dichtesten am Wurzelhalse des Baumes zu finden pflegt, läßt sich häufig am stehenden und noch grünenden Stamme meterhoch hinauf verfolgen; sie wächst aber auch abwärts in schwächere Wurzeln hinein.

Im Holze findet sich in großer Menge in den Holzgefäßen und in geringerem Maße in den Markstrahlen reichlich mit Schnallenzellen versehenes Mycel. Völlig gesunde Stellen treten neben infizierten und stark zersetzten Parteeen auf. Bei der Ulme findet eine Bräunung des Splintes, von den Gefäßen ausgehend, statt, wodurch die Grenze zwischen Splint und Kern verwischt wird; das zersetzte Holz verbreitet einen eigentümlichen unangenehmen Aasgeruch.

Das Auftreten des Hallimasch auf Laubholzbäumen ist demnach ein viel häufigeres als allgemein angenommen wird. Man will in den befallenen Ausschlagbeständen durch Rodung der Stöcke und durch mehrjährigen landwirtschaftlichen Zwischenbau den Parasiten bekämpfen, um dann Eiche, Esche und Birke nachzupflanzen.

Brick (Hamburg).

Vaňha, J., Ueber den Parasitismus von Rüben nematoden der Gattung *Tylenchus* (Bast.) (Zeitschrift für Zuckerindustrie in Böhmen. Bd. XXI. 1897. p. 422.)

Verf. erbringt in Kürze den Beweis, daß die Nematoden der Gattung *Tylenchus* wirkliche Parasiten und keine Saprophyten der Rübe und anderer Pflanzen sind. Es giebt viele *Tylenchus*-Arten, von welchen bereits mit voller Sicherheit bekannt ist, daß sie die alleinige Ursache verschiedener Pflanzenkrankheiten sind, wie z. B. *Tylenchus scadens* (Kaulbrand des Weizens), *Anguillula devastatrix* (Roggenstockkrankheit) etc. Es nimmt daher Wunder, daß gerade jene Arten derselben Nematoden, welche mit denselben Waffen ausgerüstet sind und dieselbe Lebensweise führen, welche aber auf der Rübe vorkommen, ohne jeden Grund als „allerdings sekundäre“ Begleiter von Krankheiten, welche thatsächlich durch sie verursacht werden, erklärt werden sollen. Alle *Tylenchus*- und *Dorylaimus*-nematoden besitzen eine mit mächtigem Stachel bewaffnete Mundhöhle, wodurch sie imstande sind, das noch gesunde und feste Zellgewebe zu öffnen und sich seines nahrhaften Zellsaftes bemächtigen zu können. Aber nicht allein die zweckmäßige Mundbewaffnung verrät die parasitäre Natur der *Tylenchus*-nematoden, ihr schädlicher Charakter äußert sich markanter noch darin, daß sie Verf. auch in noch gesundem Zellgewebe, wo noch kein Pilz oder ein anderer Schädiger vorhanden ist, konstatieren konnte. Diese Erscheinung ist ein Beweis, daß sie nicht etwa als eine sekundäre Erscheinung, sondern als die wahre Ursache einer Krankheit zu betrachten sind. So fand Verf. *Tylenchus*-nematoden in noch gesundem Cambium und Unterhautgewebe sowohl des unterirdischen, als auch des oberirdischen grünen Stengels bei den Kartoffeln, ferner auf Hafer, Rübe, Raps, Keimpflanzen von Kraut, Kohlrabi, Karfiol, Kohl, Rotklee, Luzernklee und anderen Pflanzen. Ein weiterer Beweis ihres Parasitismus sind end-

lich die vom Verf. ausgeführten Infektionsversuche in sterilisiertem Boden, wodurch es gelang nachzuweisen, daß die *Tylenchus*-nematoden die aufgegangenen Pflanzen befallen und durch auftretende Krankheitserscheinungen zum Absterben bringen. Die Versuche haben ferner gezeigt, daß viele Parasiten, welche den Raps, Rüben, Kohlrabi, Kohl und Kraut befallen, auch die Rübe vernichten und hierbei den Wurzelbrand derselben verursachen. Es ist daher kein Zufall oder eine Folgeerscheinung, wenn sie an einer kranken Pflanze vorkommen.

Stift (Wien).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Stenber, L., Wirkt die in der Brauereipraxis zur Reinigung der Rohrleitungen etc. verwendete Sodalösung gegenüber Hefe als Desinfektionsmittel? (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1897. No. 19. p. 253.)

Schon seit längerer Zeit wurde, namentlich durch die wissenschaftliche Station für Brauerei in München, die Sodalösung in die Brauerei, speziell zum Reinigen der Leitungen, eingeführt. Bei vielen Brautechnikern ist nun die Meinung verbreitet, daß die Sodalösung zu den wirksamen Desinfektionsmitteln zu zählen sei; es wurden deshalb exakte Versuche darüber angestellt, ob die gewöhnlich angewendeten 5—10 Proz. starken Sodalösungen von verschiedenen Temperaturen gegenüber Hefe (Kulturhefe und wilden Arten) als Desinfektionsmittel wirken.

Um den Wirkungswert heißer Sodalösungen festzustellen, wurden Parallelversuche mit Wasser von verschiedener Temperatur und den gleichen Hefen (vegetative Zellen und sporenhaltiges Material) ausgeführt.

Bei den Versuchen wurde in folgender Weise verfahren:

Etwa  $\frac{1}{2}$  g breiiger Reinhefe wurde unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln mit 10 ccm der betreffenden Sodalösung in einem Reagensglase vermischt, letzteres mit Kautschukkappen verschlossen und im Sublimatbade (1—5 ‰) verschiedenen Temperaturen (45—75° C) während verschiedener Zeit (2—30 Minuten) ausgesetzt. In den Parallelversuchen ließ man statt Soda heißes Wasser allein einwirken. Nach Beendigung des Versuches wurde die Temperatur im Reagensgläsen gemessen, die Sodalösung von dem Hefebrei abfiltriert, die auf dem Filter zurückgebliebene Hefe auf lebende Zellen geprüft und in den angegangenen Kulturen die entwickelte Hefe durch Sporenkultur mit der ursprünglichen identifiziert.

Die erste Serie dieser Versuche mit vegetativen Zellen von Kultur- und wilder Hefe und heißer, 5-proz. Sodalösung zeigte, daß bei 50° C und bis 15 Minuten langer Einwirkung die Abtötung aller Zellen noch nicht sicher erfolgt.

Von 55° C an war die Abtötung der Hefe vollständig. Heißes

Wasser allein tötet bei kürzerer Einwirkungszeit auch bei 55° C die Hefe noch nicht sicher, erst von 60° C an war keine lebende Hefe mehr zu konstatieren. Bei Anwendung von 10-proz. Sodalösung war erst bei Temperaturen von über 50° C eine nachträgliche Hefentwicklung ausgeschlossen.

Zur zweiten Serie der Versuche wurde sporenhaltiges Material verwendet und unter denselben Bedingungen gearbeitet. Hierbei zeigte sich, daß 5—10-proz. Sodalösungen bei 2—15 Minuten langer Einwirkung auch bei Temperaturen bis zu 75° C nicht immer imstande waren, das Auskeimen einzelner Sporen zu verhindern. Heißes Wasser wirkt ebenfalls bei Temperaturen von 65—75° C noch nicht in allen Fällen tödlich auf die Hefe.

Die Hefesporen haben also eine erhebliche Widerstandsfähigkeit sowohl gegen heißes Wasser, als auch gegen heiße Sodalösung. Wenn also in Brauereien bei der Reinigung mit Soda letztere auch desinfizierend wirken soll, so darf, da man dort mit sporenhaltigen Zellen rechnen muß, die Temperatur der Sodalösung nicht unter 80° C und die Einwirkungsdauer nicht unter  $\frac{1}{2}$  Stunde fallen. Die desinfizierende Kraft der heißen Sodalösung an und für sich ist eben gering, der Hauptwert derselben besteht in ihrer Fähigkeit, abgesetzten Trub und sonstige Verunreinigungen aufzulockern und zu lösen, wodurch die darauffolgende Desinfektion mit Dampf wirksam vorbereitet wird. Hierbei ist darauf zu achten, daß sich in den Leitungen keine Wasseransammlungen an den Biegungen der Rohre bilden. Autoreferat.

Valat, V., La chlorose et le traitement Rassiguier en 1895—96. (La vigne française. 1896. No. 18. p. 293.)

Im Kanton Olonzac haben infolge der Anwendung des frühzeitigen Schnittes und des Bestreichens der Schnittflächen und ganzen Reben mit Eisenvitriollösung die Reben Not gelitten.

Moritz (Berlin).

Chouard, Die Verwendung des Calciumcarbids behufs Bekämpfung der Reblaus. (Allgem. Wein-Zeitung. 1896. No. 33. p. 325).

—, Die Reblaus in Bessarabien. (Westnik Vinodelia. 1896. No. 11. p. 660).

Die Reblaus hat sich in Bessarabien in der Zeit von 1886 bis 1896 von 22 Desjätinen<sup>1)</sup> auf 4 bis 500 Desjätinen ausgebreitet. Zur Bekämpfung des Uebels wurden während des erwähnten Zeitraums gegen eine Million Rubel ausgegeben. Moritz (Berlin).

Willot, Destruction de l'Heterodera Schachtii. (Compt rend. 1896. Sem. II. No. 23. p. 1019).

Verf. hat mit der Anwendung von Gaswasser zur Bekämpfung von Heterodera Schachtii gute Erfolge erzielt. Moritz (Berlin).

<sup>1)</sup> Desjätine = 1,0925 ha.

## Corrigendum.

p. 369 Zeile 25 u. 30 von unten ist zu lesen: „Kny“ statt „Kry“ und Zeile 4 von unten „die Gelatineseite der Lichtquelle zugekehrt“ statt „der Gelatineseite“; p. 370 Zeile 17 von unten „meist nur geringen Menge“ statt „nicht nur geringen Menge“ und p. 372 Zeile 3 von oben „findet in bestimmten Grenzen“ statt „an bestimmten Grenzen“.

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat. Dr. ARTHUR WÜRZBURG,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

## Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Casagrandi, O. u. Barbagallo, P., Ueber die Kultur von Amöben. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 15/16. p. 579—589.)
- Ciechanowski, S., Krystallbildung in den Nährmedien. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 19. p. 733.)
- Claudius, Méthode de coloration à la fois simple et contrastante des microbes. (Annal. de l'Institut Pasteur. 1897. No. 4. p. 332—335.)
- Gebhardt, W., Ueber eine einfache Vorrichtung zur Ermöglichung stereoskopischer photographischer Aufnahmen bei schwacher Vergrößerung. (Ztschr. f. wissenschaft. Mikrosk. Bd. XIII. 1896. Heft 4. p. 419—423.)
- Gräberg, J., Ueber den Gebrauch von Bordeaux-R., Thionin und Methylgrün in Mischung als Dreifachfärbungsmittel. (Ztschr. f. wissenschaft. Mikroskopie. Bd. XIII. 1896. Heft 4. p. 460—461.)
- London, E. S., Schnelle und leichte Methode zur Bereitung des Nähragars. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 17/18. p. 686—687.)
- Nebelthau, E., Mikroskop und Lupe zur Betrachtung großer Schnitte. (Ztschr. f. Mikrosk. Bd. XIII. 1896. Heft 4. p. 417—419.)
- Robertson, S., Ueber Objektträger- und Deckglashalter. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 15/16. p. 589—591.)
- van't Hoff, H. J., Eine schnellere und quantitativ bessere Methode der bakteriologischen Plattenzählung. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 19. p. 731—733.)

## Systematik, Morphologie und Biologie.

- Barbet, E., Sur l'hypothèse d'une diastase saccharogénique dans la betterave. (Journ. de la distillerie franç. 1897. No. 666. p. 105—106.)
- Berger, N., Cohabitation de l'Uromyces Betae et du Phoma Betae. (Bullet. de l'assoc. belge de chimistes. 1896/97. No. 9.)
- Berlese, A., Ricerche sugli organi e sulla funzione della digestione negli acari. (Riv. di patol. vegetale. 1896, No. 5/8. p. 130—195.)
- Constantin, E., Sur une entomophthorée nouvelle (Boudierella cornata gen. n. spec. n.). (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1897. fasc. 1. p. 38—43.)
- Dejonghe, G., Perfectionnements dans la fabrication de la levure pressée par l'ancien procédé dit viennois (Alkohol M. Stenglein). (Journ. de la distillerie franç. 1897. No. 671. p. 165—167.)
- Eriksson, J., Vie latente et plasmatique de certaines urédinées. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 9. p. 475—477.)
- Fletcher, J., The cigar case-bearer of the apple. (Canadian entomol. 1896. No. 5 p. 128—130.)
- Fuller, C., Forest insects — some gall making coccids. (Agl. Gaz. N. S. Wales. 1896. No. 4. p. 209—218.)

- Gérard, E. et Darexy, P., Recherches sur la matière grasse de la levure de bière. (Journ. de pharm. et de chimie. 1897. No. 6. p. 275—280.)
- Grassi, B. in collaboration with Sandias, A., The constitution and development of the society of Termites; observations on their habits; with appendices on the parasitic protozoa of Termitidae and on the Embiidae. (Quart. Journ. of microsc. science. 1896. Nov. p. 245—322. 1897. Jan. p. 1—75.)
- Griessmayer, Alkoholische Gärung durch Hefenextrakt ohne Hefenzellen. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1897. No. 35. p. 582.)
- Guiraud, D., Le développement du black-rot. (Moniteur vinicole. 1897. No. 25. p. 98.)
- Kellogg, V. L., New Mallophaga. (California acad. scienc. Ser. 2. Vol. VI. 1897. p. 31—168.)
- Klöckler, A. u. Schöning, H., Was wissen wir über die Stammformen der Saccharomyceten? (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1897. No. 39. p. 647.)
- Kusserow, B., Die quantitative Bestimmung der Hefe bei Gärversuchen. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. No. 18. p. 106.)
- v. Linatow, Zur Systematik der Nematoden nebst Beschreibung neuer Arten. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XLIX. 1897. Heft 3. p. 608—622.)
- Lönnberg, E., Beiträge zur Phylogenie der parasitischen Plathelminthen. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 17/18, 19. p. 674—684, 725—731.)
- Mégnin, P., Un acarien dangereux de l'île Maurice, l'*Holothyrus coccinella* (Gervais). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 9. p. 251—252.)
- Müller, H., Zur Anwendung des Schwefels behufs Erzielung reinerer Gärung. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 18. p. 103.)
- Pantal, J., Sur quelques particularités anatomiques observées dans la larve de *Thrixion Halidayanum*. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 10. p. 580—582.)
- , Sur la larve de *Thrixion Halidayanum* Rond., Insecte diptère de la tribu des Tachininae, parasite de *Leptynia hispanica* Bol., insecte orthoptère de la famille des Phasmidae. Stades larvaires et biologie. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 9. p. 472—474.)
- Rosenstiehl, A., De la solubilité de la matière colorante rouge du raisin et de la stérilisation des moûts de fruits. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 10. p. 566—569.)
- Saare, Die Organismen in der Stärkefabrikation. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. Ergänzungsheft II. p. 4—7.)
- Serafini, G., Ueber die Entwicklung des anaërob kultivierten *Bacterium coli commune*. (Hygien. Rundschau. 1897. No. 11. p. 544—547.)
- Tepper, J. G. O., Bemerkungen über australische entomogene Pilze und Beschreibung südaustralischer Varietäten von *Cordiceps Gunnii* Berkeley. Vorl. Mitteil. (Botan. Centralbl. 1897. No. 23. p. 305—307.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft und Wasser.

- Hammerl, H., Ueber das Vorkommen des *Bacterium coli* im Flußwasser. (Hygien. Rundschau. 1897. No. 11. p. 529—544.)
- Pellegrini, P., Contributo allo studio dei bacilli tifosimili delle acque. (Ufficiale sanit. 1897. Gennaio.)

### Boden.

- Wiley, H. W., Soil ferments important in agriculture. (Chemical News. 1897. No. 1954, 1955. p. 222—224, 230—232.)

## Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Austin, W., On bookworms. (Nation. 1896. No. 1607. p. 305—306.)
- Kahn, W., Sur un nouveau procédé de stérilisation par la chaleur sous pression. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 9. p. 470—471.)
- , Stérilisation des liquides fermentés par la chaleur sous pression. (Moniteur vinicole. 1897. No. 22. p. 86.)



## Milch, Molkerei.

- Bericht über die Thätigkeit des milchwirtschaftlichen Instituts in Hameln im Jahre 1896. gr. 8°. 32 p. m. 6 Anlagen. Hameln (Adolf Brecht) 1897. 1 M.
- Budin, P., Sur le lait stérilisé. (Bulet. de l'acad. de méd. 1897. No. 22. p. 685—688.)
- Kraus, E., Ueber Antikörper in der Milch. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 15/16. p. 592—593.)
- Mikroorganismen, die, und der Molkereibetrieb. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1897. No. 38, 40, 43. p. 345, 360, 391.)
- Schmidt, A., Die Tuberkuloseverteilung durch Pasteurisierung der Magermilch. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1897. No. 36. p. 327.)

## Wein, Weinbereitung.

- Cazeneuve, P., Sur le ferment soluble oxydant de la casse des vins. (Journ. de pharm. et de chimie. 1897. No. 6. p. 273—275.)
- Desmoulins, A. M., La pasteurisation. (Moniteur vinicole. 1897. No. 21. p. 82.)
- Fallot, B., Le jaunissement des vins blancs. (Moniteur vinicole. 1897. No. 22. p. 86.)
- Martinand, V., Sur l'oxydation et la casse des vins. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 10. p. 512—513.)

## Andere Nahrungs- und Genussmittel.

- Conrad, E., Bakteriologische und chemische Studien über Sauerkrautgärung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIX. 1897. Heft 1. p. 56—95.)
- Frank, Die neueren Forschungen über die Ursache des Faulens der Kartoffeln. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. Ergänzungsheft II. p. 7—9.)
- Polak, J., Przyczynę do bakteriologii ostryg. (Zdrowie. 1897. No. 138. p. 92—97.)
- Untersuchungen über die Lebensfähigkeit der Pestbacillen in Körnerfrüchten. (Oesterr. Sanitätswesen. 1897. No. 21. p. 188—190.)

## Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Tichborne, Ch. R. C., The dissemination of microorganisms, and the best methods of destroying germ emanations from sewer gas. (Chemic. News. 1897. No. 1958. p. 266—268.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Altum, Die „weißen Rüsselkäfer“, *Cleonus turbatus* Fohr. und *sulcirostris* L. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1897. Juni. p. 355—358.)
- Arcangeli, G., Sul russore della vite. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. No. 8. p. 240—246.)
- Boas, J. E. V., Dansk forstzoologi. 5. hæfte. 8°. 32 p. Kopenhagen (Nordiske forlag) 1897. 65 Oere.
- Britton, W. E., L'Aleyrodes delle serre. (Riv. di patol. veget. 1896. No. 5/8. p. 256—257.)
- Cavara, F., Ipertrofie ed anomalie nucleari in seguito a parasitismo vegetale. (Riv. di patol. vegetale. 1896. No. 5/8. p. 238—244.)
- Cavazza, D., L'invasion phylloxérique et la défense en Italie. (Vigne améric. 1897. No. 3. p. 93—96.)
- Clair, A., Traitement de la vigne contre le black-rot (deux années d'expériences). 32°. 18 p. Auch (Impr. Capin) 1897.
- Debray, F. et Maupas, E., Le *Tylenchus devastatrix* Kühn et la maladie vermiculaire des fèves en Algérie. (Extr. de l'Algérie agricole. 1896.) 8°. 55 p. et planch. Alger (Impr. Fontana & Co.) 1896.
- Dorn, Empfehlen sich Zwangsmaßregeln zur Bekämpfung der *Peronospora* des Weinstocks? (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Vereine d. Großh. Hessen. 1897. No. 13. p. 113—115.)
- Dosch, Ein Wort aus dem Elsaß über die württembergischen Reblaus-Infektionen (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 13. p. 104.)

- Eckstein, K.**, Der Kampf gegen die schädlichen Insekten mit Hilfe ihrer Parasiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 2. p. 111—116.)
- Eriksson, J.**, Schutzmaßregeln gegen die Berberitze. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 2. p. 65.)
- Frear, W. and Haley, E. J.**, Diseases of curing tobacco. (Pennsylvania stat. report. 1894. p. 201—206.)
- Guiraud, D.**, La lutte contre le black-rot. (Moniteur vinicole. 1897. No. 22. p. 86.)
- Héron, G.**, Traitement du black-rot. (Rev. de viticult. 1897. No. 173. p. 406—408.)
- Hollrung, M.**, Bemerkungen über die im Jahre 1896 in der Provinz Sachsen wahrgenommenen Krankheiten der Zuckerrübe. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1897. Heft 7. p. 97—105.)
- —, Die Verhütung des Brandes insbesondere bei Gerste und Hafer durch die Saatkornbeize. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XXVI. 1897. Heft 1. p. 145—190.)
- Luts, L.**, Recherches sur la gommose de l'*Aralia spinosa*. (Journ. de botan. 1896. No. 6. p. 91—95.)
- Massalongo, C.**, Di una nuova specie di *Peronospora* per la flora italiana. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1896. No. 8. p. 298—299.)
- Michie, C. Y.**, The larch disease. (Gard. chron. 1896. No. 492. p. 670—671.)
- Porcelli, V.**, Contribuzione allo studio delle ipertrofie prodotte dalla *Roestelia lacerata* sulle foglie, sui rami e sui fiori del *Crataegus oxyacantha*. (Riv. di patol. vegetale. 1896. No. 5/8. p. 245—252.)
- Reynolds, C. L.**, A novel method of fumigating. (Amer. florist. 1896. No. 412. p. 1049.)
- Rose, E.**, Some bacteria of the potato. (Experim. station record. U. S. Department. 1896.)
- Sajó, K.**, Nach Amerika eingeschleppte Schädlinge. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 2. p. 116—118.)
- Schiemans, P.**, Zur Tipulidenplage. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1897. No. 35. p. 319—320.)
- Schreiner, Ueber einige in den Hochalpen vorkommende Borkenkäfer, *Tomicus amittinus* Eichh., *bistridentatus* Eichh., *Dryocoetes autographus* Ratz. und *Hylastes glabratus* Zett. (decumanus Er.). (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1897. Juni. p. 369—370.)**
- v. Schwerin, F.**, *Picea excelsa*-Krankheit. (Mitteil. d. dtsh. dendrolog. Gesellsch. 1896. p. 50.)
- Somerville, W.**, Farm and garden insects. 18°. 136 p. 46 illustr. London (Macmillan) 1897. 1 sh.
- Sorauer, F.**, Feldversuche zwecks Feststellung einer Abhängigkeit der bakteriosen Gummose der Zuckerrüben von Witterungs- und Bodeneinflüssen. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1897. Heft 6. p. 81—87.)
- Stift, A.**, Die kleinen Feinde der Zuckerrübe. Nach den neueren Erfahrungen der Wissenschaft und der Praxis zusammengestellt. Hrsg. durch den Landesverein ungarischer Zuckerindustriellen in Budapest.
- Taft, L. B. and Coryell, R. J.**, Potato scab. (Michigan stat. report. 1894. p. 336—343.)
- —, Leaf blight of the potato. (Michigan stat. report. 1894. p. 346.)
- v. Tubeuf, C.**, *Phytoptus laricis* n. sp., ein neuer Parasit der Lärche, *Larix europaea*. (Forstl.-naturwissenschaftl. Ztschr. 1897. Heft 3. p. 120—124.)
- —, *Lathraea squamaria* auf Nadelhölzern. (Forstl.-naturwissenschaftl. Ztschr. 1897. Heft 3. p. 124—125.)
- Underwood, L. M. and Earle, F. S.**, Treatment of some fungus diseases. (Alabama college stat. Bull. 69. 1897. p. 245—272.)
- Vine, H. C. A.**, Predaceous and parasitic enemies of aphides, including a study of hyperparasites. (IV. Internat. Journ. of microsc. and natur. scienc. 1896. No. 80. p. 157—178.)
- Vuillemin, P.**, Association et dissociation parasitaires chez les Agarics (mycose et mycobactériose). (Bullett. de la soc. mycol. de France. 1897. fasc. 1. p. 46—54.)
- Willot, M.**, Destruction de l'*Heterodera Schachtii*. (Moniteur industriel. 1897. No. 2.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Beddies, A.**, Ueber die Schwierigkeit, einwandfreie, vergleichende Desinfektionsversuche anzustellen, speziell unter Benutzung von Chinisol. (Allg. med. Central-Ztg. 1897. No. 47. p. 589—590.)
- Goegg, G.**, Recherches sur l'action bactéricide des tannins. (Annal. de micrographie. 1897. No. 2/3. p. 49—144.)

- Rieske, E.**, Ueber die keimwidrigen Eigenschaften des Ferrisulfats. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1897. Heft 2. p. 303—326.)
- Rosenberg, P.**, Ueber die Wirkungen des Formaldehyds im Holzin und Steriform. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXIV. 1897. Heft 3. p. 488—499.)

## Inhalt.

### Originalmittheilungen.

- Frank**, Eine neue Kartoffelkrankheit? (Orig.), p. 408.
- Seifert, W.**, Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Essigsäurebakterien. (Orig.) [Schluß], p. 385.
- Smith, Erwin F.**, *Pseudomonas campestris* (Pammel). The cause of a brown rot in cruciferous plants. (Orig.) [Contin.], p. 408.
- Wittlin, J.**, Bakteriologische Untersuchung der Mineralquellen der Schweiz. II. Thermen. Die Thermalquellen in Ragaz-Pfäfers. (Orig.), p. 400.
- Zeidler, A.**, Bemerkung zu der Arbeit von Dr. W. Henneberg: Beiträge zur Kenntnis der Essigbakterien. (Orig.), p. 399.

### Zusammenfassende Uebersichten.

- Behrens, J.**, Die Reihhefe in der Weinbereitung. (Orig.) [Forts.], p. 415.

### Referate.

- Aderhold, Rud.**, Ueber den Vermehrungspilz, sein Leben und seine Bekämpfung, p. 437.
- , Revision der Species *Venturia chlorospora*, *inaequalis* und *ditricha aurum*, p. 439.
- Gieslar, A.**, Ueber das Auftreten des Hallimasch (*Agaricus melleus* Vahl) in Laubholzwaldungen, p. 440.
- Delage, Yves**, La structure de protoplasma et les théories sur l'hérédité et les grands problèmes de la biologie générale, p. 423.
- Frankland, E.**, Sea-water microbes in high latitudes, p. 425.
- Otto, E.**, Einige Beobachtungen bei der Herstellung von Heidelbeerweinen, p. 428.
- Pfeffer, W.**, Ueber die regulatorische Bildung von Diastase, p. 425.

**Prunet, A.**, Les formes de conservation et d'invasion du parasite du black-rot, p. 437.

- Sajó, Carl**, Die Spargelkäfer, p. 433.
- Sanguinetti, J.**, Contribution à l'étude de l'*Amylomyces Rouxii* de la levure chinoise et des moisissures ferments de l'amidon, p. 430.
- Schiewek, O.**, Ueber Saké, das Nationalgetränk der Japaner und die bei seiner Bereitung wirksamen Pilze, p. 431.
- Sebellen, John**, Nogle Gæringsforsøg med Beersaft, p. 427.
- Vaňha, J.**, Ueber den Parasitismus von Rübennematoden der Gattung *Tylenchus* (Bast.), p. 441.
- Wehmer, O.**, Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Experimentelle Untersuchungen auf dem Gebiete der Physiologie, Biologie und Morphologie pilzlicher Organismen. II., p. 434.

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Chouard**, Die Verwendung des Calciumcarbids behufs Bekämpfung der Reblaus, p. 443.
- , Die Reblaus in Bessarabien, p. 443.
- Steuber, L.**, Wirkt die in der Brauereipraxis zur Reinigung der Rohrleitungen etc. verwendete Sodälösung gegenüber Hefe als Desinfektionsmittel?, p. 442.
- Valat, V.**, La chlorose et le traitement Rassistiguer en 1895—96, p. 443.
- Willot**, Destruction de l'*Heterodera* Schachtii, p. 443.

Corrigendum, p. 444.

Neue Litteratur, p. 444.

# CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Willfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg  
herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel**

und

**Prof. Dr. J. H. Vogel in Berlin.**

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

---

<b>III. Bd.</b>	<b>Jena, den 10. September 1897.</b>	<b>No. 17/18.</b>
-----------------	--------------------------------------	-------------------

---

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

---

## Original-Mittheilungen.

*Nachdruck verboten.*

### Weitere Beobachtungen über die Octosporushefe.

Von

**M. W. Beijerinck.**

Mit 2 Tafeln.

Die Gattung *Schizosaccharomyces* umfaßt gegenwärtig drei verschiedene Arten, nämlich *S. octosporus*, *S. pombe*<sup>1)</sup> und

---

1) Hätte der unglückliche Name „pombe“ nicht Prioritätsrechte, so wäre eine Ersetzung desselben durch „tetrasporus“ sehr wünschenswert. Ein guter Name ist keine gleichgiltige Sache, besonders wenn es sich, wie hier, um Organismen von hoher wissenschaftlicher Bedeutung handelt.

*S. asporus* (Arrakhefe). Als ich im Jahre 1894 die Entdeckung der ersteren publizierte, kannte ich *S. pombe* noch nicht durch Autopsie, und glaubte auf Grund der vorliegenden Beschreibungen, daß *S. pombe* und *S. asporus* identisch sein könnten. Inzwischen hatten gewisse Beobachtungen mich darüber in Zweifel gebracht und lernte ich durch die Freundlichkeit des Herrn Lindner die Pombehefe näher kennen. Ich fand sofort, daß Herrn Eykman's Arrakhefe davon sehr verschieden ist. So bringen viele Zellen von *S. pombe* konstant 4 Ascosporen hervor (welche sich mit Jod schwach blau färben), während *S. asporus* vollkommen asporogen ist. Dazu kommen viele andere Unterschiede.

Gewisse Fragen bezüglich der Variabilität wilder Organismen, welche in Kultur genommen werden, veranlaßten mich, meine frühere etwas fragmentarische Studie der Octosporushefe wieder aufzunehmen, weil darin ein außerordentlich geeignetes Material für Versuche bezüglich der Zellvariabilität vorzuliegen schien. Meine Erwartung ist dabei nicht getäuscht und die nun schon beobachteten Erscheinungen, besonders die Entstehung einer asporogenen Rasse, dürften zur Hypothese führen, daß sowohl *Schizosaccharomyces pombe* wie *Sch. asporus* daraus als tief veränderte Kulturformen entstanden sein können. Jedenfalls kann ich nachweisen, daß während der relativ kurzen Zeit, seitdem ich die Octosporushefe in Kultur habe, darin ohne Selektion tiefgreifende Rasseveränderungen bemerkbar geworden sind, welche soweit gehen, daß, wenn in der Natur aufgefunden, kein Systematiker zögern würde, darauf Art-differenzen zu gründen. Um diesen Nachweis streng zu bringen, war es notwendig, den alten Stamm mit einem frisch isolierten zu vergleichen; ich mußte deshalb eine Methode aufsuchen zur wiederholten Reinkultur meiner Hefe aus den natürlichen Rohmaterialien. Nach vielen vergeblichen Versuchen habe ich eine solche gefunden, welche als „Trockenmethode“ würde bezeichnet werden können, und die auf dem verschiedenen Verhalten von vegetativen Zellen und Ascosporen beim Eintrocknen bei erhöhter Temperatur beruht.

Ueber die direkten bewirkenden Ursachen der Bildung der asporogenen Hefeart herrscht, wie überall, wo es sich um Fragen der Variabilität handelt, noch Dunkelheit. Zwei Umstände, welche bei den Laboratoriumsversuchen anscheinend direkt bewirkend eingreifen, sind die einseitige Erschöpfung an gewissen Ernährungssubstanzen und der fortwährende Kontakt mit dem feuchten oder flüssigen Medium, d. h. das nicht regelmäßige Abwechseln zwischen Wachsen und Austrocknen. Ob eine Zerlegung dieser ziemlich komplizierten Verhältnisse in einfachere Faktoren möglich ist, müssen fernere Versuche lehren.

Eine Erscheinung, welche bei den Alkoholhefen allgemein verbreitet ist, besonders deutlich aber bei der Octosporushefe zu Tage tritt, ist die Proteolyse. Darüber liegen bisher nur die spärlichen Angaben vor, welche von Herrn H. Will zusammengestellt sind. Auch darauf wurde durch die so klaren Verhältnisse bei der Octosporushefe mehr Licht geworfen. Es ergab sich nämlich, daß die Absonderung des Enzyms mit dem langsamen Absterben des Zellinhaltes

zusammenhängt, und daß das Enzym selbst zu den Trypsinen und nicht zu den Pepsinen gehört. Es ist angezeigt, dasselbe Hefetrypsin zu nennen, weil es nicht völlig identisch mit den Pankreastrypsin ist. Für andere untersuchte Alkoholhefen konnte das gleiche Ergebnis festgestellt werden.

### 1. Vorkommen in der Natur.

In meiner ersten Mitteilung über *Schizosaccharomyces octosporus*<sup>1)</sup> habe ich die Ansicht ausgesprochen, daß diese Hefe wohl ziemlich allgemein verbreitet sein muß<sup>2)</sup>. Ich gründete diese Anschauung auf das mikroskopische Bild einiger mit Korinthen in Malzwürze erhaltenen Gärungen, worin, trotz einer Ueberwucherung durch andere Alkoholhefen, welche die Isolierung verhinderten, einzelne der so äußerst charakteristischen Zellpaare unserer Pflanze aufgefunden waren. Zu dem Zwecke einer erneuten Isolierung habe ich den genannten Gärungsversuch einige Male wiederholt, und zwar mit dem Erfolg, daß ich nun schon in einer Reihe von Fällen mit aller Sicherheit im mikroskopischen Präparate *Schizosaccharomyceten* auf Korinthen (von nicht genau bekannter Herkunft, jedoch sicher aus Griechenland, Kleinasien und der Türkei) gefunden habe. In solchen Gärungen finden sich nur vegetative Zellen und keine Ascen; die Isolierung derselben war wegen der massenhaften Ueberwucherung durch gewöhnliche Hefen unmöglich, so daß ich selbst nicht sicher sagen kann, ob die mit dem Mikroskope gesehenen Zellen alle wirklich völlig identisch mit meiner 1892 isolierten Hefe sind; nur soviel steht fest, daß die vegetativen Zustände sehr nahe übereinstimmen, und jedenfalls eine nächstverwandte Form vorliegen muß.

Bei diesen erneuten Versuchen hatte ich meine Beobachtungen auch auf andere Orientfrüchte ausgedehnt, welche trocken im Handel vorkommen. Dabei hat sich herausgestellt, daß unsere Hefe auch auf Feigen vorkommt, und zwar auf den besseren Qualitäten aus Smyrna. Dagegen haben Datteln und Rosinen immer ein negatives Resultat gegeben, obschon ich besonders mit den letzteren viele Versuche angestellt habe. Auch aus den Feigengärungen ist die direkte Isolierung nicht gelungen, ebenfalls durch die Ueberwucherung anderer Hefearten. Ich mußte mich deshalb nach einer besseren Isolierungsmethode umsehen.

In den mit Früchten von mehr nördlichen Gegenden angestellten Gärversuchen fehlten die *Schizosaccharomyces*zellen immer vollständig; dieses hängt offenbar damit zusammen, daß diese Gattung erst merklich oberhalb 20° C wächst und unterhalb 15° C sich nicht vermehrt; es handelt sich also um Bewohner der wärmeren Klimate, weil die natürlichen Wärmequellen unserer Gegenden, wie Mist, wohl den Bedürfnissen vieler thermophiler Bakterien, jedoch nicht denjenigen der Alkoholhefen entsprechen.

Nach dem Vorhergehenden ist es kaum nötig, noch darauf hin-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1894. p. 49.

2) Gemäß meiner damals ausgesprochenen Erwartung wurde die *Octosporushefe* angeblich auch von anderer Seite beobachtet, so von den Herren Rouin in Nancy und Schiönnig in Kopenhagen.

zuweisen, daß auch im Schleimflusse der Bäume keine Schizosaccharomyceten vorkommen. Da ich jedoch seit dem Erscheinen meines genannten Aufsatzes imstande gewesen bin, Schleimflußfälle genau zu untersuchen, will ich darüber noch einige Worte sagen. Zunächst erhielt ich großartige Sendungen von Herrn Prof. Ludwig aus Greiz und später habe ich selber eine Eiche bei der Grebbe in Gelderland gefunden, welche die Erscheinung zwar nur an einer einzelnen Stelle zeigte, jedoch in typischer Ausbildung. In dem Materiale von Herrn Ludwig waren die eigentlich interessanten Arten abgestorben, dagegen gelang mir deren Isolierung leicht aus dem niederländischen Materiale. Als ich die schleimige Masse auffand, war dieselbe gänzlich überdeckt mit einer Schicht kleiner, brauner Fliegen und entwickelte einen so herrlichen Geruch nach Estern, wie ich niemals anders beobachtet habe. Natürlich richtete ich meine Aufmerksamkeit zunächst auf die Schleimbakterien, welche offenbar die eigentliche Ursache der Erscheinung sind, und allen anderen Bewohnern Platz bereiten. Die Isolierung war eine schwierige, und es hat sich herausgestellt, daß die aktive Bakterie, welche von Herrn Ludwig *Leuconostoc Lagerheimii* genannt wird, eine stark schleimerregende Essigbakterie ist. Die übrigen bisher aus dem Schleimflusse beschriebenen Arten ließen sich viel leichter isolieren wie der Urheber, und bis heute kultiviere ich die interessanteren darunter immerfort. Meine frühere Erwartung, daß sich im Schleimflusse Maltosehefen vorfinden könnten, ist jedoch durchaus nicht verwirklicht, alle darin vorkommenden Gärungserreger vergären nur Saccharose und Glukose, wie denn auch überhaupt in der Eiche keine Maltose vorkommen dürfte<sup>1)</sup>. Von *Schizosaccharomyces* nicht die geringste Spur.

Leider war das aufgefundene Material so wenig voluminös, daß erfolgversprechende Infektionsversuche damit nicht gemacht werden konnten. Zwar habe ich solche in großem Maßstabe ausgeführt mit Prof. Ludwig's Sendungen, jedoch mit negativem Erfolge, was aber kaum anders erwartet wurde, weil ich daraus die schleimerregende Essigbakterie auch nicht mehr isolieren konnte. Vielleicht werden mit den in Reinkultur gebrachten Essigbakterien Infektionsversuche gelingen, was noch nicht versucht wurde. Bei dem von mir aufgefundenen Falle war es nicht möglich, die Gegenwart von *Cossus ligni-*

1) Die kräftigen Gärungserscheinungen, welche Glukosehefen, wie *S. apiculatus*, Saccharosehefen, wie *S. Ludwigii* etc. in Malzwürze hervorrufen, dauern nur so lange, als die entsprechenden Zuckerarten vorkommen; die Maltose bleibt bei der Gärung unberührt und kann gänzlich unverändert bleiben, oder vielleicht nachträglich für Wachstum in Betracht kommen, so lange bestimmte Stickstoffquellen nicht fehlen.

Bei dieser Gelegenheit wünsche ich noch zu bemerken, daß *Endomyces Magnusii* bei mir niemals Sporen erzeugt, und daß ich Brefeld's darauf bezügliche Figuren nicht für völlig beweisend halte, weil die Auskeimung nicht gesehen ist. Niemand hat hier die Gegenwart von Ascosporen überzeugend erwiesen, und nach meiner Ansicht handelt es sich dabei jedenfalls um eine besondere Art der Gattung *Oidium*. Die Gärung, welche dadurch in glukosehaltigen Lösungen hervorgerufen wird, steht nicht damit im Widerspruche, denn ich erhielt von Herrn Ludwig eine ganz andere, ziemlich nahe mit *Oidium lactis* verwandte *Oidium*art, welche ebenfalls Glukose alkoholisch vergärt. Diese Form wurde von Herrn Ludwig in dem Schleimflusse (wie ich meine) einer wilden Kastanie gefunden.

perda zu konstatieren. Dennoch meinte ich, daß die schleimende Stelle einer Verwundung entsprach, vielleicht durch das Abreißen eines Astes entstanden.

## 2. Methode zur Isolierung: Trennung der Ascosporen von den vegetativen Hefezellen.

Als ich durch die bei vielen Gärungen gemachten Erfahrungen die Ueberzeugung gewonnen hatte, daß die Octosporushefe eine allgemein vorkommende Art ist, habe ich mich bemüht, dieselbe in den Waschwässern der früher genannten Orientfrüchte nachzuweisen. Ich vermutete, daß darin die achtsporigen Ascen vorkommen müßten, welche so charakteristisch sind, daß deren Gegenwart wohl nicht durch Erde und Schmutz würde verdeckt werden können. Auch dieser Nachweis ist mir in den Waschwässern gewisser Muster von Korinthen mehrfach gelungen. Als ich dadurch die weitere Ueberzeugung gewonnen hatte, daß die Octosporushefe jedenfalls im Ascosporenzustande in dem Rohmateriale vorkommt, konnte an die Trennung dieser Ascosporen von den anderen Hefen, welche wenigstens meistens nur als vegetative Zellen angetroffen werden, gedacht werden.

Ich legte mir nun die Frage vor: Ist es möglich, bei den Hefen die vegetativen Zellen zu töten, ohne dabei die Ascosporen zu schädigen? Als Versuchsmaterial erschien die Octosporushefe selbst besonders geeignet, weil sie eine asporogene Rasse erzeugt hat, und andererseits massenhaft Sporenmaterial darbietet. Ich will hier nicht die verschiedenen Versuche schildern, welche kein Resultat gegeben haben, sondern sofort den mit Erfolg gekrönten Weg bezeichnen: Die Ascosporen können im trockenen Zustande bis auf  $105^{\circ}$ ,  $110^{\circ}$ , ja bis auf  $115^{\circ}$  C (und vielleicht bei absoluter Wasserentziehung noch höher) erhitzt werden, ohne abzusterben. Die vegetativen Zellen sterben dagegen auch im trockenen Zustande schon bei viel niedrigeren Temperaturen, nämlich bei ca.  $80^{\circ}$  C vollständig ab, während schon bei  $56^{\circ}$  C ein massenhaftes Absterben derselben beginnt<sup>1)</sup>.

Wie ich erwartet hatte, und das ist eben das Prinzip der Trennungsmethode geworden, sterben auch die vegetativen Zellen der fremden Hefen beim Erhitzen im trockenen Zustand schon massenhaft bei ca.  $56^{\circ}$  C, wodurch sich bequem eine relative Anreicherung der Ascosporen in Bezug auf die vegetativen Zellen anderer Hefen in irgend einem Materiale erreichen läßt, das einzige, was für erfolgreiche Isolierung notwendig ist.

Diese Erfahrung wurde nun die Basis für folgendes Trennungsvorgehen:

Mit viel anhängender Erde verunreinigte Korinthen<sup>2)</sup> sowie Feigen wurden mit wenig Wasser abgewaschen und dieses nach kurzer Zeit (um nicht zu viel Zucker zu extrahieren) abgelassen, auf eine Glasplatte ausgegossen und dann langsam im Thermostaten bei  $30^{\circ}$  C getrocknet.

1) Wie sich andere Alkoholhefen in dieser Beziehung verhalten, werde ich später mitteilen.

2) Besonders türkische Korinthen sind stark verunreinigt und tragen viel Octosporushefe.



Die trockenen Platten wurden dann in eine Trockenstube gebracht und sehr langsam bis auf  $56^{\circ}\text{C}$  erhitzt. Bei dieser Temperatur wurde mit einem Messer etwas Material abgekratzt oder es wurde aufgeweicht, und das Material einerseits zur Aussaat auf Malzwürzelgelatine verwendet (wobei jedoch nur in sehr vereinzelt Fällen Octosporuskolonien erhalten wurden), andererseits wurden damit Gärungsversuche ausgeführt, indem es in flüssige Würze von 10 Saccharometergraden gebracht wurde, welche mit Milchsäure auf den Säuretitler 6—9 Proz. Normalsäure gebracht war. Besonders die letztere Versuchsanstellung gab ein interessantes und beinahe konstantes Resultat. Bei  $30^{\circ}\text{C}$  aufgestellt, blieben die meisten Kölbchen während 3 Tagen unverändert. Dann bildete sich darin (neben Mycel von *Aspergillus niger*, welches leicht mit dem Platinfaden zu entfernen ist) ein weißes Präcipitat von Tetraden und Octaden der Octosporushefe augenscheinlich in Reinkultur; als diese sich stark vermehrte, kam jedoch auch ein gewöhnlicher *Saccharomyces* zur Entwicklung, welcher am 6. Tage sozusagen Alleinherrschaft erlangte und die Octosporushefe zurückdrängte. Natürlich hatte ich am 4. Tage, als die fremde Hefe noch kaum sichtbar war, eine Würzelgelatineplatte angelegt, welche bei der von mir stets geübten „Oberflächenaussaat“ ein wunderschönes Kolonienengemisch von schneeweißen, mehr trockenen, etwas rauh punktierten Octosporuskolonien und wenigstens drei mehr gelblich gefärbten gewöhnlichen Hefearten hervorbrachte. Diese drei letzteren waren deshalb durch Eintrocknen bei  $56^{\circ}\text{C}$  so lethargisch geworden, daß sie mehrere Tage zum Auskeimen erforderten, während *Octosporus* offenbar sofort ausgekeimt war. In dem für diesen Versuch verwendeten Präparate fehlte Weinhefe. Wäre diese gegenwärtig gewesen, so würde ich höher erhitzt haben, weil die letale Temperatur dafür höher liegt.

Die von Smyrnafeigen isolierte Octosporushefe kann ich nicht von den unter sich ebenfalls identisch erscheinenden Korinthenisolierungen unterscheiden.

Da mein zunächst beabsichtigter Zweck erreicht war, ist es nicht notwendig, auf die Folgen der weiter fortgesetzten Erhitzung des eingetrockneten Hefematerials hier näher einzugehen.

In Bezug auf die Versuchsanstellung wünsche ich noch zu bemerken, daß die Gärungserscheinungen einen schnelleren Verlauf haben können, wenn die Würze nicht auf 6—9 Proz. Normalsäure angesäuert wird, sondern niedriger; da die Octosporushefe aber Säure gut verträgt, fand ich es den zahlreichen mit hineingebrachten Bakteriensporen gegenüber ratsam, den Säuretitler hoch zu nehmen. Allerlei anderen Betrachtungen, wozu mein Versuch Veranlassung giebt, müssen hier übergangen werden <sup>1)</sup>.

1) Nur eines will ich noch bemerken. Zur Begründung seiner Ansicht, daß die Alkoholgärung nicht notwendig die Gegenwart lebenden Protoplasmas erfordert, führt Herr E. Buchner an (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXX. 1897. p. 1110; vergl. auch H. Will, Zeitschr. f. Brauwesen. Jahrg. XX. 1897. p. 362), daß bei  $100^{\circ}\text{C}$  getrocknete Hefe (unter Umständen) noch imstande ist, Rohrzucker zu vergären. Wie man aus meinem Versuche sieht, kann ich darin keinen Beweis sehen, denn auch das für die Ascosporen in Anwendung kommende Protoplasma der Hefezelle kann auf  $100^{\circ}\text{C}$  erhitzt werden, ohne zu sterben. Aber selbst aus der Thatsache, daß eine Hefe-

### 3. Bildung einer asporogenen Rasse bei der Octosporushefe.

Es ist von verschiedenen Seiten darauf hingewiesen, daß die Ascosporenbildung bei den Saccharomyceten trotz ihrer hohen Bedeutung für die Diagnose der wilden Arten eine höchst veränderliche Erscheinung ist, welche in unseren Laboratoriumskulturen durchaus keine Konstanz besitzt und für die Charakteristik der Varietäten jedenfalls bei unseren gegenwärtigen Kenntnissen nicht zu verwenden ist. Meine Erwartung, daß auch bei der Octosporushefe Verschiedenheiten zwischen den verschiedenen Zellen in Bezug auf die Leichtigkeit der Ascosporenbildung bemerkbar sein würden, hat sich in ganz eklatanter Weise bestätigt. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß schon sofort bei der Kultur und deshalb auch wohl im Naturzustande eine Spaltung unserer Hefe in zwei Rassen stattfindet, welche als „vegetative und generative“ oder, besser vielleicht, als „asporogene“ und „sporogene Rasse“ benannt werden können, und welche, wie mit einem Blicke aus meinen Photogrammen zu sehen ist, so außerordentlich verschieden sind, daß man eigentlich mehr geneigt ist, hier von verschiedenen Arten wie von Rassen zu sprechen. Ferner ergab sich, daß die Manipulationen der Reinkultur die fortwährende Anhäufung der vegetativen Rasse begünstigen. Schon längst war mir aufgefallen, daß meine Kulturen eine außerordentliche Verschiedenheit in der Anzahl der Ascosporen bei übrigens gleichen Kulturbedingungen aufweisen. Eine genauere Verfolgung zeigte, daß es sich um eine Erscheinung handelt, welche nicht nur in der genannten Beziehung, sondern auch in anderen Hinsichten den in Betracht kommenden Zellen ein besonderes Verhalten aufprägt, welches zwar nur bei sehr bestimmten Kulturbedingungen leicht zur makroskopisch sichtbaren Beobachtung kommt, aber einmal aufgefunden, sich unter den verschiedenartigsten Verhältnissen als konstante Erscheinung ausweist. Zunächst sei bemerkt, daß ich hier unter „bestimmten Kulturbedingungen“ das Anlegen von Koloniekulturen auf dicken Würzeagarplatten verstehe. Dieses ist durchaus notwendig, um bei der Selektion ein sicheres Kennzeichen zu haben; auf Würzegelatine ist der Unterschied zwischen den beiden Formen nicht makroskopisch zu beobachten. Es stellt sich dagegen heraus, daß die Koloniekulturen, welche auf Würzeagarplatten oder in Reagenzröhren auf Würzeagar angelegt werden, bei vollständiger Reife, d. h. nach der Erschöpfung des Nährbodens, von dreierlei Natur sind: Erstens weiße, welche nur aus Ascen und Ascosporen bestehen; zweitens hellbräunliche, welche nur vegetative Zellen und ascenartige, jedoch ascosporenfreie Zellen enthalten; drittens sehr leicht braune, „gemischte“ mit allen drei Elementen. Eben diese an und für sich geringe Farbenverschiedenheiten haben mich zur Entdeckung der Rassenbildung geführt.

(Fortsetzung folgt.)

zelle nicht mehr zum Wachstum zu bringen ist, darf nicht ohne weiteres geschlossen werden, daß alle Konstituenten darin tot sind. Ich würde dafür allerlei Analogieen aus dem Pflanzen- und Tierreich anführen können, welche zeigen, daß bestimmte Teile nicht wachstumsfähiger Zellen dennoch lebendig sein können.

*Nachdruck verboten.*

## The Rise and Fall of Bacteria in Cheddar Cheese.

By

**H. L. Russell and John Weinzirl.**

University of Wisconsin, Madison Wis., U. S. A.

With 1 figure.

In studying the transformations that occur in the ripening or curing of cheddar cheese, it is necessary that we take into account the biological as well as the chemical and physical changes. For, undoubtedly, the latter transformations are in large part due to the action of living organisms, principally the bacteria that are incorporated with the curd. Before much advance can be made toward a satisfactory and complete explanation of the phenomena that are to be noted in the ripening of cheese, the relation of bacteria as to kind and number, and the variations that occur in this flora at different stages of the curing process must be considered.

Such a problem is not by any means easy. The technical difficulties that are to be overcome in the bacteriological analysis of such a substance as cheese are considerable, especially in the un-ripened product. Perfected methods of bacteriological analysis in such a case are by no means thoroughly worked out. In fact, the methods yet suggested render quantitative determinations of little value.

Numerous examinations of the bacterial content of different kinds of cheese have been made by many investigators in this line of dairy bacteriology; but few have studied the matter from a quantitative standpoint and for the different periods of the ripening changes in the same cheese. Von Freudenreich<sup>1)</sup> has done more than any one else in this line. His studies have been confined to the changes that occur in the ripening of the Emmenthaler cheese. He finds that the peptonizing bacteria (*Tyrothrix* spp. of Duclaux) are relatively few in this cheese; that they rapidly disappear under normal conditions or even when added to the milk in large numbers. They seem to have no effect on the ripening of the product. The lactic acid bacteria on the other hand undergo a marked increase, and probably are the chief group of organisms that function in the ripening changes. von Freudenreich made quantitative determinations of the number of organisms in cheese but his analytical methods were too imperfect to enable him to determine with any degree of accuracy the course of the numerical changes as they occurred.

Lloyd<sup>2)</sup> in his work on the cheddar cheese of England confirms these results in a general way. Although he does not make quantitative determinations, he finds that the lactic acid organism preponderates to such an extent that he considers them to be chief agents in the ripening changes.

1) von Freudenreich, Landw. Jahrb. d. Schw. 1891. p. 16; also *ibid.* 1894. p. 207.

2) C. J. Lloyd, Bath & West of England Reports. 1892—94.

### Methods of Bacteriological Analysis of Cheese.

In considering the proper culture methods to pursue in obtaining the most information as to the bacterial changes that occur in our American cheddar cheese, many different methods were tried. Comparative cultures made under anaerobic conditions indicated that by far the larger part of the cheese bacteria were facultative in respect to their gaseous environment. Obligate anaerobes were practically absent so the aerobic methods of culture analysis were adopted.

As to the composition of the culture medium, a number of different trials were made with various substances added to peptone gelatin such as whey, skim milk, glucose, and lactose sugars. Cultures heated to eliminate certain types of germ action; cultures with  $\text{Ca Co}_3$  to take up developing acid were also tried but no material advantage was shown in any of these over the regular standard 10% beef extract pepton gelatin, neutral in reaction. Certain predominant lactic acid forms grew more luxuriantly in glucose media than with out this sugar but the differentiation between the different species was not so marked on the sugar-containing media as without.

The details of culture making are here presented as this method has not been suggested for cheese analysis. The difficulty in cheese analysis, especially when the cheese is fresh, is to get a fair, representative sample and to triturate it fine enough so that all of the bacteria are allowed to develop. The cheese here studied were "flats", i. e., cheese having the diameter of regular cheddars, 38—40 cm, but only about one-half as thick (15 cm). They weigh from 10—12 K. each. In making the cheese, the acid is developed until the curd closes up, giving a firm "meaty" texture as opposed to the open texture that is to be noted in what are known as "sweet curd" cheese.

The sample selected for analysis is taken from well within the rind by a cheese trier or borer that has previously been flamed or sterilized by heat. By means of a sterile knife a portion of the inner part of this cylinder of cheese is removed and weighed. The unit of mass selected is one gram.

To prevent the cheese from drying out or becoming moldy where the "cheese plug" is taken out, a piece of closely fitting glass tubing or test tube or a cork that has previously been heated in paraffin is inserted in the hole. This enables one use a single cheese for twenty or thirty tests without the condition of the cheese being materially affected by the samples removed.

The next step is to bring the gram of cheese into such a state of division that the particles chosen are representative. Old matured cheese is quite soluble in water but with new cheese in which the casein is not yet converted into soluble peptones, it is exceedingly difficult to divide the particles fine enough so that a representative sample can be secured.

This difficulty is overcome by triturating the cheese mass in a sterile mortar in contact with a finely divided sterile substance like sand or sugar. If the cheese is rubbed with this, it is ground up into a fine friable mass. The sand is sterilized in a hot air steril-

izer at 150° C for an hour. Sugar has the advantage over sand, that it dissolves quickly leaving the bacteria free in the water, but it is more difficult to free this from adherent bacteria. Heat cannot be used advantageously as the sugar melts at a relatively low temperature. It can however be sterilized with sufficient thoroughness by immersing it for a few days in ether in which it is insoluble. A large part of the ether can be decanted off and saved for a succeeding lot. The residue of ether may be driven off by a gentle heat.

Where sand is used it must be thoroughly shaken in a definite volume of sterile water for several minutes to distribute the bacteria, and then a definite quantity removed, say a drop or so, by means of a calibrated pipette. The extent of the dilution is then computed from the number of drops per cc. The disturbing element in this method is the rapid rise of the fat in the cheese sample but a little experience will soon enable the operator to make the emulsion and secure the necessary dilution before the fat begins to materially differentiate itself from the watery liquid.

This method of dividing the casein permits of the separation of the same into extremely fine particles. A close examination in culture plates of these finely comminuted curd masses show that the bacteria are for the most part detached from them, the colonies developing in the nutrient medium. Where colonies grow in contact with the curd fragments, they are usually of one kind, and not more than one colony is adherent to each microscopic curd mass.

### Bacterial Content of Cheese.

The cheese that were used for this series of tests were made according to the typical cheddar method. They were of full size and ripened under normal conditions so as to correspond as nearly as possible with the results of regular practice. With the first cheese, analyses were made at varying intervals until the cheese was eight months old. In this way a history of the bacterial changes that took place could be determined with sufficient accuracy. To corroborate the results obtained in this first set of analyses and to fill in the intervals during which no analyses were made, similar determinations were frequently made on a number of other cheese, especially during the earlier part of the ripening process.

In classifying the different species of bacteria as they appear in culture plates, it is impossible to accurately determine each species at the time. In these analyses they are therefore grouped according to certain functional characteristics, depending upon their effect on milk. This was considered to be of more importance in the investigation than the determination of the presence of any special form, since the physiological function of two morphologically different species might be quite the same, and consequently, their effect on the ripening of cheese nearly identical. Such a classification is purely arbitrary but it would seem justifiable on the above grounds in the present instance.

The bacteria in the different analyses are therefore grouped into the following classes :

- 1) Lactic acid group, those souring the milk without the production of gas.
- 2) Gas-forming group, mainly lactic acid forms, capable of producing H and CO<sub>2</sub>. These forms are the cause of swelling or "Huffing" (Blähen) of cheese.
- 3) Casein-digesting group, those dissolving the casein of milk by the formation of tryptic or peptic-like ferments. Mainly the spore bearing class of bacilli (Tyrothrix of Duclaux, Kartoffel and Heubacillen).
- 4) Inert group, those having apparently no effect on casein in milk cultures.

### Quantitative Bacterial Determinations of Cheddar Cheese.

The following tables give a summary of the results obtained from the quantitative analyses made of the different cheese.

In order that the bacterial content of the green cheese may be compared with that of the milk, the number of organisms in a quantity of milk that is necessary to make a gram of cheese (10 cc approximately) is also given.

Table I.

Number of Bacteria per gram in Cheddar Cheese at Different Stages of the Ripening Process.

	Age of cheese	Total no. bacteria pr. gr.	Lactic acid bacteria pr. gr.	Gas-producing bacteria pr. gr.	Casein-digesting bacteria pr. gr.	Inert bacteria pr. gr.	Percentage of lactic acid bact. in sample
0ccm milk	—	53 180 000	40 088 000	6 070 000	6 330 000	100 000	76,5
Cheese I made 18. VI. 1895 ripened at 18° C	5th day	Analytical results lost owing to liquefaction of the gelatin					
	13th "	68 015 000	67 470 000	400 000	145 000		99,2
	24th "	69 485 000	69 270 000	210 000	5 000		99,3
	36th "	16 996 000	16 996 000	34 000	2 000		99,7
	52nd "	11 500 000	11 470 000	25 000			99,7
	74th "	6 700 000	6 682 000	9 000			99,8
	94th "	4 183 000	4 158 000	25 000			99,4
	120th "	2 352 000	2 352 000				100
	155th "	207 000	207 000				100
	183rd "	380 000	380 000				100
	197th "	377 000	377 000				100
	237th "	86 000	86 000				100
0ccm milk	—	95 000 000	82 600 000	6 030 000	6 180 000	190 000	84,8
Cheese II made 10. VII 1895 ripened 20° C	1st day	7 644 000	6 103 000	959 000	581 000		79
	5th "	95 640 000	94 300 000	1 243 000	95 000		98,6
10ccm milk	—	262 000 000	52 400 000	78 600 000	131 000 000		20
Cheese III made 24. IX. 1895 ripened at 20° —24° C	4th day	115 400 000	115 130 000	271 000			99,8
	10th "	64 350 000	64 286 000	64 000			99,9
	18th "	43 264 000	43 259 000	5 000			99,9
	30th "	36 887 000	36 882 000	5 000			99,9
	53rd "	5 304 000	5 299 000	5 000			99,9
	86th "	15 223 000	15 210 000				99,9
	108th "	7 084 000	7 080 000				99,9

	Age of cheese	Total no. bacteria pr. gr.	Lactic acid bacteria pr. gr.	Gas-producing bacteria pr. gr.	Casein-digesting bacteria pr. gr.	Inert bacteria pr. gr.	Percentage of lactic acid bact. in sample
Cheese IV							
Pasteurized milk	4th day	110 146 000	110 136 000	10 000			99.9
with lactic acid starter made	10th "	53 976 000	53 976 000	trace			100
	18th "	38 842 000	38 842 000				100
	30th "	23 400 000	23 400 000				100
24. IX.	58rd "	1 075 000	1 072 000	3 000			99.7
1895 ripened at	86th "	21 000	21 000				100
20°-24° C	108th "	5 000	5 000				100
10 cem milk	—	665 220 000	664 600 000			620 000	99.9
Curd	—	158 320 000	156 000 000		2 320 000		99.8
Cheese V							
Normal milk and sour milk starter made	2nd day	82 414 000	82 134 000		280 000		99.6
	4th "	95 200 000	94 770 000		430 000		99.7
	7th "	102 750 000	102 750 000		trace		100
14. XII.	10th "	84 617 000	84 617 000		trace		100
1895 ripened 20°-23° C	13th "	24 024 000	24 024 000				100
10 cem milk	—	227 860 000	211 680 000	1 180 000	14 800 000	200 000	92.8
Curd	—	26 532 000	22 560 000	180 000	3 792 000		85
Cheese VI	1st day	21 060 000	20 176 000	52 000	832 000		95.9
Normal milk made	5th "	43 716 000	39 680 000	36 000	4 000 000		90.8
	7th "	46 440 000	45 760 000	80 000	600 000		98.5
26. II.	10th "	98 080 000	97 280 000	160 000	640 000		99.1
1896	13th "	97 240 000	96 800 000	176 000	264 000		99.5
ripened at 18° C	15th "	76 400 000	76 000 000	200 000	200 000		93.4
	19th "	48 139 000	48 000 000	77 000	62 000		99.6
	22nd "	16 000 000	15 633 000	349 000		18 000	97.7
	36th "	11 171 000	11 000 000	158 000	13 000		98.3

It will be noted that the bacterial content of the milk is high compared with the average analyses of milk, but it must be borne in mind that in all these cases the milk was ripened at a temperature favoring very rapid bacterial growth (30° C).

The character and kind of species of bacteria in the ripened milk is also worthy of notice. Almost without exception the lactic acid organisms greatly predominate. In cheese III made Sept. 24, the liquefying and gas producing bacteria were present to an abnormal degree. In almost every case gas and casein-digesting bacteria were formed in the milk but as a rule in relatively small numbers. The conditions under which the milk is ripened favor particularly the development of the acid-producing organisms, so that they make up by far the greater number found in ripened milk. The more rapid development of these has also a tendency to inhibit partially the growth of some of the other types.

Curd. The number of bacteria in freshly prepared curds is less than in the ripened milk before the rennet is added, as is seen in the tabulated data of cheeses V & VI. This difference is considerably

greater than is indicated by this, for it must be noted, that the bacteria in the curd have been developing under optimum growing conditions for several hours, and the fact that the analyses even show a numerical difference is positive proof that a large reduction in numbers must have occurred.

The addition of rennet to the ripened milk precipitates the casein and when this is heated causes a separation of the solid curd from the whey. In this physical process, part of the bacteria in the fluid milk remain with the curd but a large proportion are expelled with the whey so that the diminution in numbers may be regarded as largely mechanical.

The rennet extract used in making cheese is usually rich in bacteria, but this factor can practically be neglected as the number actually introduced into the milk is relatively insignificant owing to the inappreciable quantities used.

In the cheddar process the treatment of the curd preparatory to pressing is such as to greatly favor germ development. Normally this results in the rapid formation of lactic acid, as seen from the solvent action of this acid on the casein causing it to string when a small mass of it is applied to a heated iron rod, as in the "hot iron" test.

1) Period of initial decline. In those cases where the green cheese were examined immediately after being removed from the press, a diminution in numbers was found to have taken place. This period of decline lasts but a short time. In our analyses it was not observed after the second day. The causes that led to this decrease in bacterial life are not apparent. The conditions are so changed from what they were in the milk or curd that it is not surprising that the bacterial content is reduced. Still it is a question whether this decline can be ascribed to this change in condition or not. Lower temperature would tend to retard germ growth while the further expulsion of the whey incident to pressing would remove many organisms. When the different types are noted it will be observed that the actual decline is quite generally distributed, all species being more or less diminished in numbers. This fact would tend to confirm the theory that the decline was produced by purely mechanical causes.

The first series of changes that occur in the cheese are then those of bacterial decline. But as this is followed by a second period of diminishing numbers, we may, therefore, designate the first stage as the period of initial bacterial decline.

2) Period of bacterial increase. The initial decrease in bacteria observed during the first few days of the life of the cheese is followed by a very pronounced change which continues for a varying period of time. A marked development in the number of bacteria per gram is to be noted so that in the course of a few days, the germ content may increase many fold. The period of time covering this change varies somewhat, depending upon a number of conditions, the most important of which, is, perhaps, the temperature at which the cheese is ripened. In the cheeses here studied, the



duration of this period varied from 8—20 days; the slow period of development occurring in those cheese that were ripened at the lower temperature as seen in table II.

Table II.  
Showing Period of Maximum Number of Bacteria and its Relation to Curing Temperature.

No. cheese	Date of making	Period of maximal bacterial content	Curing temperature	No. of bacteria per gram
I	18. VI. 1895	24th day	18°—20° C	69 485 000
III	24. IX. 1895	4th „	20°—24° C	115 400 000
IV	24. IX. 1895	4th „	20°—24° C	110 146 000
V	14. XII. 1895	7th „	20°—23° C	102 752 000
VI	21. II. 1896	10th „	18° C	98 080 000

It will be observed that the earlier period of this rise in numbers marks the most rapid development, the bacteria growing very rapidly for a time; then, their rate of increase is checked.

While the marked numerical increase has without doubt a certain significance in the curing of cheese, the phenomenon is still more strongly characterized when a still closer analysis is made of the changes that occur.

A classification of the different forms reveals the fact that the total numerical increase is not equally distributed among the different types of bacteria. It is confined almost exclusively to the lactic acid group of organisms. Although from the beginning, this type of bacterial life predominates in the milk, the green cheese in the course of a few days often shows almost a pure culture of an organism capable of souring the milk, and occasionally, if gas producing bacteria are prevalent, these increase for a brief period, but as a rule, they succumb finally to the lactic acid producing organisms.

The same is true to a still more marked extent of those bacteria that are able to digest or dissolve the casein of the milk. Normally, they are present only in limited numbers, but in the gradually ripening cheese they rapidly disappear, so that at the end of a few weeks, cultures will only occasionally reveal their presence.

The same is found to be true when large quantities of digesting bacteria are added to milk which is then made into cheese. Within a short time, even under these conditions, this peptonizing class practically disappear.

The exact cause of this phenomenal development of lactic acid bacteria is not yet apparent. The green cheese seems to offer them optimal conditions of development, but the exact nature of these conditions is not so evident. Naturally one might expect, in as much, as the lactic acid-producing bacteria are able to decompose the sugar of the milk with great facility, that the rapid growth of this class occurred at the expense of this saccharine element, but such a co-incidence fails to be established if a biological analysis and a sugar determination are made simultaneously. In typical cheddar cheese,

the sugar disappears in a few days, by far the larger part being broken up before the cheese is taken from the press. This occurs some time before the maximum development of lactic bacteria is to be noted.

The relation of this bacterial increase to the curing changes as they occur in the cheese is a question of considerable practical importance. Not enough experiments have been made to determine the effect with absolute certainty but in the cases already studied, there was a close relation observed between this maximum germ development and the physical changes in the cheese. With this rapid increase in organisms the curd begins to lose its elastic texture and before the highest number is reached, shows very evident signs of curing as noted from the physical changes. The coincidence of these two conditions may be accidental, but it is quite as probable that there is a causal relation existing between them.

The maximum development of the lactic acid bacteria marks the practical elimination of the peptonizing or digesting organisms, although mere traces may persist for some time. There is undoubtedly a close relation existing between these two physiological types of bacterial life. Experimentally, it has been shown by Freudenreich that acid inhibits the development of the casein-digesting bacteria as seen in the appearance of the peptonizing organisms where culture plates are first heated to destroy the ordinary lactic acid forms. The destruction of this type permits the digesting bacteria to grow. The same result is seen in the final fermentation of pasteurized milk. This almost invariably undergoes a fermentative change other than lactic curdling by the action of an enzyme. These experimental facts throw light on this point, and incidentally show that the peptonizing bacteria are kept under in the battle for life in competition with the lactic acid forms. It is to be noted that this liquefying class practically disappears before there is any apparent breaking down of the casein. This is an important observation in the light of the general explanation that has usually been given for the ripening of cheese. If the breaking down of the casein is a peptonizing — a conversion of the insoluble casein in to soluble peptone-like products — how can this change be reconciled with the enormous development of the lactic acid class and the practical disappearance of the peptonizing or digesting organisms?

3) Period of final bacterial decline. The maximum development of bacteria in the cheese is soon marked by a period of final decline. The decrease in germ life is at first rapid but later is much retarded.

Reference to the fig. shows that the ascending and descending curves of bacterial life are not uniform; the segment indicating development shows a much sharper curvature than that denoting the final decline.

The causes that brings about this decline can at present only be conjectured. The unfavorable environment may be due in part to the accumulation of waste products of bacterial action, or to gradual desiccation.

In the course of time the cheese may become practically sterile, although this condition does not inure for a long time. A bacteriological examination of hard dry skim cheese over two years old has shown the presence of the lactic acid bacteria although in very limited numbers. In these cheese they must be practically in a latent state as the conditions

are so unfavorable that actual growth would seem impossible.

It is a peculiar fact that some of the gas bacteria persist in the cheese until this stage, although in relation to the pure lactic acid group they form an infinitesimally small percentage. This

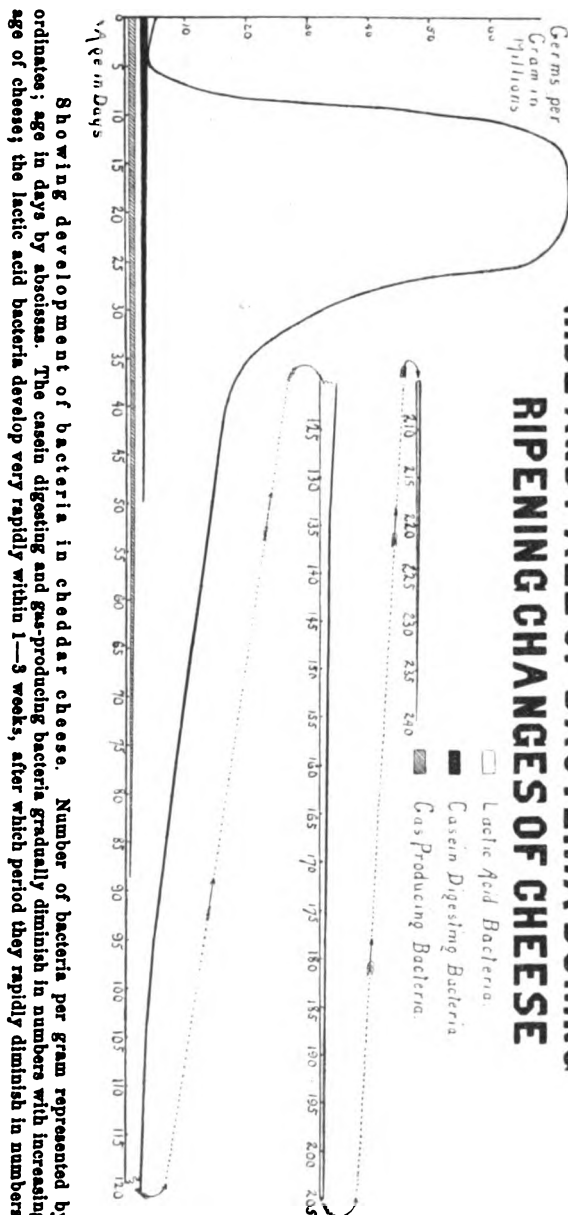
persistence is probably due to the fact that they are in a sense lactic acid bacteria themselves and so are able to compete with those species that produce lactic acid exclusively.

With many of the gas bacteria, a considerable percentage of lactic acid is produced, but in their

growth, still further decomposition changes usually occur, in which hydrogen and carbonic acid are given off as gaseous products.

The lactic acid bacteria are better suited for

## RISE AND FALL OF BACTERIA DURING RIPENING CHANGES OF CHEESE



development in the cheese, and as a consequence, in the battle of life, they come off conquerors over the other forms that may have been originally in the milk.

What the complete function of these lactic acid bacteria is, is yet a question. Their relation to the curing of the cheese is vital as is seen in the failure of cheese made from pasteurized milk to break down. Just how the acid bacteria are responsible for this change has been a question to which much study has been given and to which no satisfactory answer has yet been obtained. The overwhelming predominance of this type of fermentation, however, would seem to indicate that it is a highly important part of the necessary process and that more study is needed to reveal its true function.

### Relation of above data to theory of cheese curing.

The usual explanation of the breaking down of the cheese has been that casein is decomposed into peptone-like substances under the influence of digesting or peptonizing bacteria, and that the action of these bacteria on milk, in which the insoluble casein is changed into the soluble substances was analagous if not identical with the changes that occur in the cheese<sup>1</sup>). If this is a true explanation, then we should expect to find the liquefying or digesting organisms more numerous in the partially ripened than in the green cheese. Then too, if this class of bacteria function as ripening agents, the efforts of the cheese-maker should undoubtedly be to further their development, and in the details of manufacture to afford conditions favoring their rapid growth.

It will have been observed from the foregoing analyses that the reverse is in all cases true. Not only are the liquefying organisms repressed from the very beginning, but the conditions are such that they are rapidly destroyed, even when added in large numbers.

The maker throughout the entire process of cheddar cheese manufacture treats his milk and curd in such a way as to develop the lactic acid bacteria, and their rapid growth seems to hinder effectually the increase of the liquefying type.

We are then confronted with the following conditions. Either the processes that have been empirically developed in making this variety of cheese are directly antagonistic to the production of the most favorable conditions as to ripening, or the theory upon which the ripening changes have generally been explained is at variance with the facts.

As is very often the case where is a direct conflict between the results obtained by long practical experience and purely theoretical explanations, the theory fails to stand.

Not only from the standpoint of common experience but from experimental study and close observation from the scientific standpoint, the commonly accepted theory of cheese ripening, that the liquefying or digesting bacteria in the milk are the cause of the

1) Duclaux, *Fabric. mat. et maladies du fromage de Cantal*. Ann. Ag. 1878; also *Le Lait*.

peptonization of the casein, does not seem to apply to the curing changes of cheddar cheese.

The results here detailed practically confirm those of von Freudenreich, who has studied the bacterial flora of Emmenthaler or Swiss cheese in the same general connection. While this type of cheese differs somewhat from our cheddar cheese yet they can be classed together as belonging to the same general type. The fact that the rise and decline of the bacteria is the same in both cases strengthens the proof that the peptonizing or digesting bacteria play little or no rôle in the curing changes.

Although not dealing with the subject from the quantitative standpoint, the observations of Lloyd on the characteristic organisms in English cheddar likewise show that the lactic acid bacteria greatly predominate in the ripening cheese.

It is not the purpose of this paper to propose another explanation in lieu of the one that has heretofore been held to be untenable. Our attempt has been merely to study the natural changes under natural conditions, and interpret as closely as possible the results. With our increasing knowledge gained in this way unbiased, it is to be hoped that a rational explanation may be found that will be in accord with all of the observed facts. This can not be done, however, on too meagre data.

The general results of this analytical study of the bacterial changes that take place in the curing of American cheddar cheese may be briefly summarized as follows:

- 1) There is at first a marked falling off in the number of bacteria in the green cheese for a day or so. (Period of initial decline.)

- 2) This is followed by a very rapid increase in numbers in which the bacteria reach scores of millions of organisms per gram. (Period of increase.)

- 3) This period is followed by a diminution in numbers, at first rapid but later more gradual, until the bacterial content sinks to insignificant proportions. (Period of final decline.)

- 4) The time necessary to reach the maximum development (2nd period) is hastened or retarded by such external conditions as temperature, moisture, etc.).

- 5) The second period also marks the beginning of the physical change that occurs in the cheese in the earlier part of breaking down of the casein.

- 6) The bacterial flora of cheese differs markedly from that of milk. In milk the lactic acid bacteria predominate, but accompanying them are always liquefying or peptonizing organisms, and as a rule, bacteria capable of developing gaseous bye products. In the ripening cheese, the peptonizing or casein digesting bacteria are quickly eliminated; the gas producing bacteria disappear moreslowly, sometimes persisting in very small numbers for a long time. The lactic acid bacteria on the other hand develop enormously for a time until the cheese is partially ripened when they too begin to diminish in numbers.

- 7) The generally accepted theory that the peptonizing or digesting bacteria are able to break down the casein in the cheese as they do in milk is improbable, because this type of bacteria fails to in-

crease in the cheese and usually disappears before there is any evidence of physical changes in the condition of the casein. The same is true where cheese is made from pasteurized milk to which copious starters of these peptonizing organisms have been added.

8) The coincidence existing in point of time between the gradual ripening of the cheese and the marked development of the lactic acid bacteria seems to indicate that these phenomena are causally related. This view is further strengthened by the fact that cheese made from pasteurized milk in which the lactic bacteria have been destroyed fail to ripen in the normal manner while the addition of a pure lactic acid ferment to the pasteurized milk permits the usual changes in the casein to occur in a normal way.

April 1897.

---

*Nachdruck verboten.*

## Zur mechanischen Analyse der Bakterienplatten.

Von

M. Jegunow, Assistenten,

in

Nowo-Alexandria.

Ich schicke meinem Artikel: „Mechanische Analyse der Bakterienplatten“, welcher in kurzer Zeit in Druck erscheinen wird, seinen kurzen Inhalt und Schlußfolgerungen voraus.

Die Resultate meiner 3-jährigen Forschungen der Bakterienplatten und der aus leblosen Körpern (feinem Schwefelpulver,  $\text{FeS}$ ,  $\text{Fe}_2(\text{OH})_6$  etc. und auch aus Oelemulsion) bestehenden Platten, sind folgende:

I. Die Grundbedingung meiner Kulturen ist völlige Ruhe und Stillstand (Stagnation) der Flüssigkeit, was man zuerst durch Ungleichheit der spezifischen Gewichte in verschiedenen Horizonten der Flüssigkeit und der möglichst sorgfältigen Beseitigung der Temperaturschwankungen (besonders der einseitigen) erreicht; eine vollständige Beseitigung der letzteren (besonders während den Beobachtungen) ist unmöglich.

Diese Grundbedingung schließt alle Bewegungen der Flüssigkeit, außer den Diffusionsströmen, aus. Daher beziehen sich alle unten angeführten Erscheinungen auf Platten, die sich in einem absolut unbeweglichen Medium befinden.

II. Das, was ich Bakterienplatten nenne, sind sehr dichte und scharfgezeichnete, vollständig ebene und horizontale, gleichmäßig dichte Bakterienansammlungen. Ihre Breite beträgt weniger als 0,01 mm, d. h. nur 2—4mal mehr als die Länge der Organismen.

III. Das Studium der sich in den Platten vollziehenden Prozesse zeigt, daß wir hier mit irgend welchen Ursachen zu thun haben, welche nach denselben mechanischen Prinzipien wirken, wie die Anziehungskräfte. Bei einer solchen induktiv hervorgerufenen Anschauung erscheinen alle, sogar die kompliziertesten Prozesse, leicht erklärbar.

Die in der Platte vor sich gehenden Prozesse sind Prozesse der Zusammenziehung ihres Stoffes. Die Zusammenziehungstypen erschöpfen alle theoretisch möglichen Fälle der Stoffzusammenziehung, deren Bewegung durch eine Fläche begrenzt ist, wie wir es in unseren Objekten haben.

Folgende Zusammenziehungstypen sind von mir festgestellt:

1) Einfache Zusammenziehung. 2) Zusammenziehung mit einer Verdichtung der Fontainenumgebung. 3) Zusammenziehung mit einer Verundichtung der Fontainenumgebung. 4) Schroffe Zusammenziehung. 5) Progressierende Zusammenziehung mit folgenden Phasen: a) Erscheinen von rundlichen Löchern oder Ritzen<sup>1)</sup>; b) Sieb- oder Gitterplatte; c) Muster- oder Figurenplatte; d) Zerfall der Muster in Streifen; e) Zerfall der Streifen in rundliche (durchhängende) oder ebene Ansammlungen; f) Spaltungstypus.

Das Endresultat der Zusammenziehungsprozesse ist der Zerfall der Platte in rundliche Ansammlungen; Trichter und Fontaine bilden sich schon aus diesen letzteren. Diese Zusammenziehungstypen sind allgemein für Platten aus  $\alpha$ - (beschrieben im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. No. 14 und 15),  $\beta$ -,  $\gamma$ - und anderen Organismen, welche ich in den Seen der Krim, Sibiriens, in den Limanen von Odessa, im Schwarzen Meere gefunden habe, und endlich für Platten aus roten Schwefelbakterien, die es mir endlich gelang zu kultivieren.

Auf den photographischen Abbildungen sind alle Phasen dieser komplizierten Prozesse von dem Erscheinen der rundlichen Löcher oder Ritzen bis zur Bildung der rundlichen Anhäufung des Trichters und der Fontaine zu sehen, ebenso klar sind die Arten der Teilung der Mengen freier Organismen: die bisquitähnlichen Figuren sind Universalfiguren, sowohl der Teilung, wie auch der Verschmelzung.

IV. In einigen Fällen, besonders beim Ueberfluß des organischen Stoffes, kehren nicht alle Organismen aus der Fontaine zur Platte zurück; ein Teil von ihnen fällt, indem er Säulen bildet; in denselben sind die Organismen tot, unbeweglich; das Fallen ist ein sehr langsames, passives, die Folgen ihrer Schwere; daher nenne ich sie Fallsäulen. Man beobachtete es bei den  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\chi$ -Organismen.

V. Platten eines gemischten Bestandes bestehen aus zwei Organismenspecies. Ich nenne sie Differenzplatten, wenn eine jede Organismenspecies ihre eigene Anhäufung bildet.

Die Anhäufungstypen in den Differenzplatten sind folgende: 1) Typus der konzentrischen Anhäufungen; 2) Typus der ringförmigen Anhäufungen (beide Typen sind im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. II. 1896. No. 14—15. Taf. III und IV beschrieben) und 3) Typen der freien Gruppenbildung (ein jeder der Organismen bildet seine Anhäufungen auf der Platte wie auf einem harten Substrat).

Teilung der Mengen. Typen: 1) bisquitähnlicher, ohne Verschwimmung; 2) bisquitähnlicher, mit Verschwimmung der entstandenen Ansammlungen; 3) ringförmiger, welcher auf folgende Art entsteht:

1) Stellen mit undichten Organismen.

Die Ansammlung vergrößert sich im Durchmesser; ihr Centrum wird undichter, weil sich die Organismen an der Peripherie ansammeln und einen Ring bilden; derselbe zerfällt in 2, 3, 4 etc. kleine Ansammlungen.

VI. Verteilung der Stoffe in den Kulturen. Die  $H_2S$ -Verteilung wurde vermittelt des Reaktivfadens (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. No. 1) studiert; ebenfalls vermittelt der Reaktivplatten (aus Seidenpapier) und der Reaktivnetze (aus Fäden von Watte), welche ebenso wie der Reaktivfaden zubereitet werden. Die Resultate sind im vergangenen Jahre (Abt. II. Bd. II. No. 1) und im „Annuaire géologique et minéralogique d. l. Russie“. T. I. Livr. 1. 1896 beschrieben worden.

Die Sauerstoffverteilung (und die der Fäulnisstoffe) wurde vermittelt der Färbung der Flüssigkeit mit Indigokarmin (zuweilen auch mit neutraler Lakmuslösung) studiert. Resultate: unter der Platte ist die Flüssigkeit absolut sauerstofffrei (die Flüssigkeit ist farblos oder gelb); über derselben ist die Flüssigkeit reich an Sauerstoff (von blauer Farbe). Der Uebergang der gelben Flüssigkeit in eine blaue geschieht sehr plötzlich (auf einer Strecke von 2—4 mm); die Platte liegt auf der Grenze dieser 2, dem Bestande nach, entgegengesetzten Flüssigkeiten, jedoch in der blauen (aërierten), aber die Fontainenspitzen in der gelben (sind folglich gänzlich sauerstofffrei). In den großen Fontainen der Schwefelbakterien der Fontainenplatte (beschrieben hierselbst 1896. No. 1) ist eine beständige und genügend schnelle (von 0,02 bis 0,04 mm 1 Sek.) Organismenbewegung, welche genügt, um mit sich Wasser hinwegzureißen und die Aëration der Fontaine hervorzurufen. Thatsächlich sind die Fontainen bläulich angefärbt (die Organismen sind farblos); die durch die Bewegungen der Organismen hervorgerufenen Wasserströme waren durch Beobachtungen bewiesen: 1) eine Abweichung der sehr langsam fallenden (3—5 mal langsamer als die Bewegung der Organismen) Körper und 2) Vergrößerung der Geschwindigkeit ihrer Bewegung beim Eintritt in die Fontainenachse. Für diese Experimente war ein Mikrometer mit einem kleinen Gegengewicht verfertigt, welches in das Okular des Horizontalmikroskops gestellt wurde.

VII. Die Anwendung des Reaktivfadens und von Indigokarmin geben mir die Möglichkeit, mich bestimmt über die Beijerinck'schen Bakterien-Niveaus<sup>1)</sup> zu äußern. Ich untersuchte seine Niveaus, welche sich in Kulturen mit Bohnen bilden. Die Kulturen aus den Salzseen Sibiriens beleuchteten ganz unerwartet diese Bildungen. Besonders lehrreich und demonstrierend waren die Fälle, in denen sich in einer und derselben Kultur in der Entfernung von 10—20 und mehr mm zwei Platten bildeten. Es mußte scheinen, daß die Platten vollständig identisch sein müßten, weil die Verteilung des spezifischen Gewichtes, Wirkung der Temperaturschwankungen und die Wasserströme dieselben sind und identisch auf die Platten wirken müßten. Jedoch waren die Platten ganz

1) Beijerinck, Centralbl. für Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 827.



verschieden. Die untere, aus Schwefelbakterien bestehend, ist streng eben, horizontal, sehr gering (ihre Dicke ist unter 0,01 mm), ihre Fontainen sind streng regelrecht; über ihr findet sich ein sauerstoffreiches Medium, unter ihr ein absolut sauerstofffreies, folglich ist das die Bakterienplatte. Die obere ist konkav, dick (ca. 0,25 bis 0,5 mm), an den Rändern undichter, zur Mitte dichter, die untere Grenze ist eine scharfe, die obere diffus; die Flüssigkeit unter derselben enthält Sauerstoff; zeitweise fallen aus dem centralen Teile Organismen (der Ueberfluß) und bilden Säulen, welche zuweilen durch die Bakterienplatte reichen und dadurch unbedeutende, nur zeitweilige Störungen in der Thätigkeit der Fontaine der letzteren hervorrufen.

Diese obere Platte ist folglich aus Organismen gebildet, welche einen bestimmten Sauerstoffdruck verlangen. Schärfe der unteren und Diffusion der oberen Grenze weist darauf hin, daß die Organismen fühlbarer für Sauerstoffmangel, als für seinem Ueberfluß sind. Folglich bilden sich die Organismen in einem ziemlich großen Raume und nachdem sie bis zum Horizont des zum normalen Leben nötigen Minimalsauerstoffes gefallen sind, bleiben sie hier stehen und bilden eine Platte; ihre konkave Form und Dichtigkeitsverbreitung ist die Folge ihrer Schwere. Deswegen nenne ich diese und die ihr ähnlichen Platten Sedimentplatten. Eben solche Sedimentplatten bilden auch die Repräsentanten des Tierreiches (Kulturen aus den Salzseen Sibiriens). Dieses veranlaßte mich, Beijerinck's Versuche mit Bohnen zu wiederholen, um die Lage des Bakterienniveaus und die Verteilung des Sauerstoffes in den Kulturen zu studieren. Es ist von Wichtigkeit, die Dauer der Kulturen möglichst zu verlängern. Daher wurden die Gase, welche sich am 3.—4. Tage bilden und das Niveau sehr schnell zerstören, durch Glaswolle, welche die Bohnen bedeckt, abgehalten. Die Temperatur war eine ziemlich konstante, weil es im Herbst des vergangenen Jahres war; das Laboratorium wurde nicht geheizt und infolgedessen konnte man die Kulturen einen ganzen Monat aufbewahren. Resultate: Alles, was von der Sedimentplatte gesagt war, ist auch vom Niveau zu sagen. Die Platten sind in einer sauerstoffreichen Flüssigkeit gelegen. Unter denselben ist die Flüssigkeit noch 30—40—70 mm mit Indigokarmin blau gefärbt, folglich geschieht das Verschwinden des Sauerstoffes (das Entfärben) recht tief unter denselben und dabei sehr allmählich (auf einer Strecke von 20—30 und mehr mm).

Was das Gebiet der Niveaus anbetrifft, so ist nach der Farbe der Flüssigkeit zu urteilen, keine Möglichkeit, voraus zu sagen, wo die Niveaus sich befinden müssen (die Kultur wird auf dem weißen Fond eines weißen, stark beleuchteten Blattes Papier bei Reflex- oder durchgehendem Lichte beobachtet; die Platten sind hierbei nicht sichtbar). Folglich ist die Differenz im Sauerstoffgehalt unter und über dem Niveau so gering, daß man dieselbe vermittels der Reaktion nicht ermitteln kann. Nach allem diesen finde ich es für geeignet, diese Gebilde als Sedimentplatten zu bezeichnen.

Es haben sonach die Beijerinck'schen Bakterienniveaus und meine Bakterienplatten nichts Gemeinsames.

VIII. **Sammelzone oder Horizont** nenne ich diejenige Zone, wo sich die Bakterienplatte bildet. Sie unterscheidet sich im höchsten Grade durch elektive Eigenschaften (im Sinne von Winogradsky<sup>1)</sup>). Sie ist die Grenze zweier, dem chemischen Bestande und dem Charakter der physiologischen Prozesse nach entgegengesetzter Räume; die Thätigkeit der Organismen der Platten verursacht einen sehr scharfen Uebergang eines Raumes in den anderen. Das ist auch der Oxydationshorizont.

**Sedimentzone oder Horizont** nenne ich die Zone, in welcher sich aus einem Raume, unter dem Einfluß der Schwerkraft und einiger Variationen im Bedürfnisse oder im Aushalten des Druckes von Sauerstoff, Organismen absetzen.

Im Schwarzen Meer existiert ein Sammelhorizont. Man muß sehr schwerwiegende Gründe haben, um denselben zu verneinen. Was den Sedimenthorizont anbetrifft, so kann er auch nicht sein, weil die von der Abkühlung des Oberflächenwassers abhängende vertikale Wassercirkulation des Meeres eine mehr als 100 m dicke Wasserschicht einnimmt, und deswegen kann die Existenz eines solchen Horizonts verhindert werden.

IX. **Bewegungscharakter der Organismen in der Plattenfläche.** Eine vollständige Identität des physikalisch-chemischen Charakters eines jeden Horizontpunktes der Platte bedingt vollständige Bewegungsfreiheit der Organismen in ihrer Fläche. Daher können 1) die Wege der Organismen keine langen sein; 2) die Organismen verbleiben eine lange Zeit in einem bestimmten, sehr beschränkten Gebiet der Platte. Wenn irgend eine Ursache wäre, so würde dieselbe eine Massenbewegung (Fließen) der Organismen zu einem bestimmten Punkte hervorrufen, und 3) am Bau der rundlichen und anderen Anhäufungen nehmen nur die örtlichen Organismen teil. Dieses alles wird bestärkt durch unmittelbare mikroskopische Analyse und Studium der Erscheinungen in den Differenzplatten, welche verschieden sein können: 1) nach der Dichtigkeit ihrer Teile und 2) nach ihrem bakteriologischen Bestande; im letzten Falle wurde beobachtet, daß die Verbreitungsgeschwindigkeit der Anhäufungen einer Organismenspecies auf der Platte einer anderen Species sehr langsam von statten geht (100 und mehr mal langsamer als die eigentliche Bewegung der Organismen ist).

X. Zur Fontainenbildung bildet sich zuerst in der Plattenfläche eine rundliche Ansammlung, welche, gemäß ihrer Verdichtung, anfängt sich durchzuhängen und in einen Trichter zu verwandeln.

Zwischen zwei genügend nahen Fontainen ist die Platte bogenförmig (siehe Fig. 4, 5 u. 6 in Bakterien-Gesellsch. hierselbst. Abt. II. Bd. II. 1896. No. 1). Die Ursache des Durchhängens ist die Schwere, die Ursache der bogenförmigen Biegung der Platte — das Fließen (oder Fallen) der Organismen auf derselben. Die Beweise dafür sind folgende:

Platten mit Säulen. Beschrieben im Arch. des sciences

1) S. Winogradsky, Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Arch. d. Sciences biol. St. Pétersb. Vol. III. 1895.)

biologiques. St. Pétersbourg. T. III. 1895. No. 4. Fig. 2, 3 u. 4. Es gelang mir nicht, in diesen Säulen den in den Fontainen analogen Bewegungen zu entdecken (hierselbst Abt. II. Bd. II. 1896. No. 1). In der letzten Zeit hat Beijerinck in seinem Artikel: „Emulsions- und Sedimentfiguren bei beweglichen Bakterien“ (hierselbst Abt. II. Bd. III. 1897. No. 1 u. 2/3) analoge Bildungen beschrieben. Die Organismen sammeln sich in Säulen, welche sich nach Verlauf von einiger Zeit auf den Boden des Gefäßes setzen und die sogenannten Sedimentfiguren bilden. Der Autor ist der Meinung, daß die Säulenbildung von der Strömung der Flüssigkeit herrührt: in den Säulen bewegt sich die Flüssigkeit mit Sauerstoff nach unten, aber zwischen denselben die Flüssigkeit mit  $\text{CO}_2$  nach oben, d. i. analog den Bewegungen, welche in den von mir beschriebenen Fontainen vor sich gehen. Aehnliche Bildungen mit leblosen Körpern gelang es Autor nicht zu erhalten. Schon längst habe ich Säulenplatten der Oelemulsion erhalten, jedoch sind dieselben nicht zum Studium geeignet.

Ich erhielt jetzt solche Platten aus S, FeS,  $\text{Se}_2$ ,  $(\text{OH})_6$ ,  $\text{CaCO}_3$ , CdS, CuS etc. Das Prinzip des Erhaltens ist folgendes: Man nimmt Lösungen von 2 solchen Stoffen, daß sich bei ihrer Berührung unlösliche Stoffe bilden würden. Das spezifische Gewicht einer dieser Lösungen wird durch NaCl bis zu einem gewissen Grade vergrößert.

Ich beschreibe hier einige dieser Platten, auf welchen man mit besonderer Schärfe die eine oder andere Erscheinung beobachten kann:

Die Platten aus Schwefel werden folgendermaßen zubereitet: In ein Probierglas gießt man NaCl mit HCl (anstatt HCl kann man auch Formaldehyd gebrauchen, jedoch ist dieses nicht so gut) angesäuert; das wird die untere Flüssigkeit sein. Darüber wird sehr vorsichtig destilliertes Wasser gegossen, darauf wird ein wenig  $\text{H}_2\text{S}$ -Wasser mit  $(\text{N}_4)_2\text{S}$  hinzugegan. Sofort, oder bei sehr verdünnten Lösungen nach einigen Minuten, bildet sich an der Stelle der Berührung eine sehr dünne (ca. 0,1 mm) Platte aus feinsten Schwefelkügelchen; allmählich wird sie dicker (ungefähr nach  $\frac{1}{2}$  Stunde 0,3—0,4 mm); die Schwefelkörner werden gröber; die Körnigkeit der Platte, welche anfangs unbemerktbar ist, sogar bei einer Vergrößerung von 20 mal, tritt immer deutlicher zutage. Im Verlaufe dieser ganzen Zeit sinken die Platten mit einer sehr geringen Geschwindigkeit (0,00014—0,0009 mm pro Sek.); einige Stellen fangen an, schneller zu fallen und bilden Säulen; um eine jede der letzteren bildet sich in der Platte ein lichter Feld; die Fallgeschwindigkeit der Säulen (0,0005—0,0016 mm pro 1 Sek.) erweist sich als genügend, um die nahe liegenden Teile der Platte mit sich ziehen zu können. Die Entfernung der Säulen ist ca. 1 mm. Wie sich ein Wasserstrahl in Tropfen zerlegt, ebenso trennen sich am Ende der Säule kugelhähnliche Teilchen ab; diese Erscheinung ist physikalisch zu erklären; nachher verschwindet sie. Wenn man die Platte von oben sieht, so wird man regelrecht verteilte Kreise (die Basen der Säulen) gewahr.

Die das Fallen der Säulen hervorrufenden Wasserströme sind nur dazu genügend, um eine regelrechte Lage der Säulen zu bedingen.

Dieses folgt aus dem rein mechanischen Prinzip: ein jeder Körper bewegt sich nach der Seite des kleinsten Widerstandes; das Fallen der Säule zieht auch die Flüssigkeit hinter sich nach, weswegen die Falllinien der nahen Schwefelsäule zugeneigt sind.

Die Bedeutung der Diffusionsströme ist nur auf die Wirkung der Fallgeschwindigkeit beschränkt. Diese Säulen sind — die Fallsäulen.

In nicht zu hohen Schalen (z. B. bei einer Wasserschicht von 10—30 und mehr mm) kann man den Beyerinck'schen Sedimentfiguren analoge Bildungen erhalten. Man läßt sich die Säulen auf den Boden der Schale setzen, was mehrere Stunden verlangt; der Absatz besteht aus regelrecht gelegenen, weißen, runden Flecken. Man kann die Flüssigkeit abgießen, die Schale austrocknen und für lange Zeit diese Sedimentfiguren aufbewahren.

Die Schwefelplatte scheint sich mir von allen anderen am meisten den Schwefelbakterienplatten zu nähern, sowohl in der Intensität der in ihnen vor sich gehenden chemischen Prozesse, als auch ihrem Produkte nach (Schwefelkörner); auch eine Analogie im spezifischen Gewicht (Schwefel und Schwefelbakterien) kann hier durchgeführt werden; folglich kann hier ein Vergleich der Fallgeschwindigkeiten stattfinden (Größe der Schwefelkörner 0,3—0,4  $\mu$ ).

Die FeS-Platte ist in anderer Beziehung sehr interessant.

Zubereitung: Die untere schwere Flüssigkeit besteht aus  $\text{H}_2\text{S}$ -Wasser mit  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ , die obere aus einer sehr verdünnten  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$ - oder  $\text{FeSO}_4$ -Lösung. Alles was für die vorhergehende Platte gesagt worden ist, bezieht sich auch auf diese. Als neue Erscheinung beobachtet man nur das, daß die Platte zwischen je zwei Säulen gewölbt, konvex, erscheint. Es ist das Resultat des Mitziehens der Platte durch die Bewegung der Säulen. Die Erscheinung tritt sehr scharf hervor.

Mann kann in diesen Versuchen die chemischen Prozesse komplizierter machen; Man braucht nur z. B. in den vorhergehenden Versuchen die Lage der Flüssigkeiten zu vertauschen (die obere zur unteren und umgekehrt machen) oder verschiedene andere Stoffe hineinzuführen; der Charakter der Bilder wird hierdurch nicht verändert.

Folglich können wir noch hinzufügen: Die Wirkung der chemischen Prozesse auf die Platten wird auf keine merkliche Art ausgedrückt; diese Prozesse rufen keine genügend starke Strömung in der Flüssigkeit hervor.

CuS-Platte. Einige Stunden nach dem Zubereiten der Platten kann man das Erscheinen rundlicher, undichter Stellen beobachten, analog den Löchern (oder Ritzen) der Bakterienplatten. Nach 24 Stunden stellt die ganze Platte ein Gitter oder Netz von 4—5—6eckigen Schlingen dar (0,5 mm und weniger); weil das Fallen der feinsten CuS-Teilchen am stärksten an den Ecken des Netzes (d. h. an den Stellen der Vereinigung der Schlingen) geschieht, so sind hier die Säulen deutlich zu sehen (man kann sie 1—2 mm nach unten verfolgen). Auf dieser Platte kann man einige Phasen des oben beschriebenen Typus der progressierenden Zusammenziehung beobachten. Vortreffliche Gitter oder Netze erhält man mit CdS-Platten (aber auch mit allen oben genannten); hier ist es

klar, daß sich diese Gitter infolge des Fallens der Moleküle bilden. Was die Erklärung dieser Erscheinungen durch Wasserströme anbelangt, so ist diese Erklärung meiner Meinung nach die am wenigsten glaubwürdige.

Wenn man einige Eigenschaften der Bakterienplatte in Betracht zieht, wie z. B.: 1) den schnellen und unumgänglichen Zerfall der Platte durch einige Reize („Platten mit andauernder und erhöhter Chemotaxisspannung — hierselbst. Abt. II. Bd. II. 1896. No. 14 u. 15), 2), Wirkung des Lichtes auf die Intensität und Schnelle der Zusammenziehungsprozesse in den Platten der roten Schwefelbakterien und 3) die zerstörende Wirkung des Lichtes auf die Fontainen und Platten aus einer Mischung der Schwefelbakterien der Fontainenplatte + ein Organismus (sehr ähnlich dem  $\gamma$ -Organismus), so kann kein Zweifel aufsteigen, daß in den Prozessen der Zusammenziehung des Stoffes der Bakterienplatten die Hauptrolle die Chemotaxis spielt. Erscheinungen in den Differenzplatten bestärken diese Schlußfolgerung.

Das Fallen der Bakterienhaufen. Ich halte es für notwendig, einige Resultate der vorhergehenden Versuche durch Versuche mit lebenden Organismen zu bestärken: 1) Unter die Ecken des Deckgläschens werden ebenso dicke Glasstücke untergelegt und mit Paraffin am Objektglas befestigt; darauf führt man unter das Deckgläschen Flüssigkeit mit Schwefelbakterien der Fontänenplatte (über diese siehe hierselbst Abt. II. Bd. II. 1896. No. 23/24), wenn hierbei unterm Glase einige Luftbläschen bleiben, desto besser.

Nach wenigen Minuten versammeln sich die Organismen und bilden ein Netz, weil sie in gleicher Entfernung vom Glasrande und von den Luftbläschen sich befinden. Die Zusammenziehung dauert an. Einige Stellen des Netzes werden immer dichter und zuletzt bleiben nur noch von der Platte einige dichte, bald kugelförmige, bald ovale, bald ringförmige Haufen übrig. Wenn man jetzt das Glas vertikal stellt, so fallen viele Haufen bald vertikal, bald schräg, es fallen nur die nicht, bei welchen sich die größere Hälfte der Organismen am Glase befestigt hat.

Hieraus folgt, daß die Schwerkraft eine streng bestimmte Rolle in den Erscheinungen spielt. Sie ist die Ursache des Durchhängens der rundlichen Anhäufungen.

Die krummen Linien, welche die Trichterfontainen bilden, und in dem Falle, wenn diese letzteren sehr nahe sind, die bogenförmigen Krümmungen der Platte — hängen vom Fließen der Organismen ab.

XI. Da aber in den Erscheinungen chemotaxische Eigenschaften der Organismen, welche sich ihrer Größe (Spannung) und wahrscheinlich auch ihrem Zeichen (+ oder —) nach ändern, beteiligen, so kann man auch in jedem betreffenden Falle die absolut unumgänglichen mechanischen Folgen nicht erwarten; daher kommt es auch, daß 1) sogar dichte rundliche Anhäufungen nicht durchhängen können; 2) die Trichter verschwinden können und die dieselben zusammensetzenden Organismen gleichmäßig in der Platte schwimmen u. s. w.

Ich beschreibe den Mechanismus der Plattensenkung als typisches und einfaches Beispiel dafür, daß die Hauptrolle bei den

Erscheinungen den Organismen zukommt. Aus einer Kultur im schmalen Gefäß wird von oben ein wenig Flüssigkeit entfernt; die Platte fängt an zu sinken. Daher erreichen die aus der Fontaine zurückkehrenden Organismen nicht die Platte, sammeln sich aber in einiger Entfernung von derselben und bilden zu den Seiten einer jeden Fontaine eine Art Hörner; jetzt ist die Bewegung der Organismen folgende: Aus der Fontaine begeben sie sich, wie gewöhnlich, zu den Seiten und nach oben, erreichen die Hörner, bewegen sich in denselben zur Fontaine und kehren wiederum hierher zurück, folglich beschreiben sie eine geschlossene Kurve. Die Platte wird undichter — sie geht in die Hörner über; die letzteren werden immer länger und endlich verschmilzt das rechte Horn der einen Fontaine mit dem linken der anderen u. s. w. Auf diese Weise bildet sich unter der alten Platte eine neue, indem die erste fortfährt, die ganze Zeit zu sinken, verschmilzt sie endlich mit der zweiten (oder mit den Hörnern, falls dieselben sich noch nicht vereinigt haben).

Die Wirkung der Diffusionsströme beschränkt sich nur auf folgende karge Rolle: Bei einer bedeutenderen Veränderung des spezifischen Gewichts in der Kultur ist die Krümmung der krummen Linien, welche einen Trichter bilden, größer (folglich ist der Krümmungsradius kleiner), die Länge der Fontaine ist kleiner.

Die unabänderliche Einförmigkeit der Erscheinungen in den Säulenplatten aus leblosen Körpern, mit einer größeren oder kleineren Geschwindigkeit als die der beweglichen Organismen, ist ein deutlicher Beweis dafür, daß die durch Schwerkraft, Diffusion, chemische Prozesse etc. hervorgerufenen Ströme in der Flüssigkeit eine sehr geringe und einseitige Bedeutung haben.

Die Fontaine ist das gewisse einzige Resultat der aktiven eigenen Bewegungen der Organismen und wahrscheinlich die einzige Form der Bewegung in dem Falle, wenn gleichzeitig eine auf- und heruntergehende Bewegung existiert. In den Fontainen kann keine fontainenähnliche Bewegung sein.

XII. Und so führt mich die Erforschung der von mir entdeckten Bakteriengesellschaften zu folgenden Schlüssen:

1) Die Bakterienplatte ist ein Körpersystem mit bestimmten physiologischen Eigenschaften.

2) alle Erscheinungen in den Platten sind Funktionen vieler Ursachen, aber hauptsächlich der Eigenschaften der Organismen. Je kombinierter die Platte in bakteriologischer Hinsicht ist, desto komplizierter sind die Erscheinungen in derselben (siehe die Differenzplatte).

Wenn wir diese Funktion in Teile zerlegen, so erhalten wir

3) alle in der Plattenfläche vollziehenden Prozesse (Zusammenziehung) hängen von der Schwankung der Chemotaxisspannung (Ch. sp.) zwischen den Organismen ab. Die Bedeutung der Schwere (Sch.) ist = 0;

4) alle Prozesse, welche sich in perpendikulärer Richtung zur Platte vollziehen, wie Durchhängungen, hinuntergehende Bewegung in den Fontainen, hängen von der Chemiotaxis (Ch.) und von der Schwerkraft (Sch.) ab, und insbesondere

a) die fontainenähnliche Bewegung ist die Folge der gleichzeitig herauf- und hinuntergehenden Bewegungen der Organismen;

b) die Kurven der Trichter und die bogenähnlichen Krümmungen der Platte zwischen den Fontainen sind die Folgen des Fließens der Organismen längs der Platte, das Durchhängen der Ansammlungen ist die Funktion der Schwere;

c) die Rückbewegung der Organismen aus den Fontainen zur Platte ist die Folge der Chemotaxis (Ch.), die Bewegung nach unten die Folge der Sch. und Ch.;

d) die Flüssigkeitsströme in den Fontainen werden durch die Bewegung der Organismen (Bw.) hervorgerufen.

5) Der Krümmungsradius ( $\rho$ ) der den Trichter bildenden Kurven und die Länge (L.) der Fontaine steht im Zusammenhang mit den Diffusionsströmen (Df.);

6) die außerordentliche Dünne der Platte ist die Folge der Anziehung (Ch.) zwischen den Organismen;

7) die Lage der Bakterienplatte ist die Stelle des Treffens der Diffusionsströme des Sauerstoffes von oben und der Produkte der Fäulnis (mit  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  etc.) von unten; Bedeutung der Schwerkraft (Sch.) = 0.

8) Die Lage der Sedimentplatte hängt von der Schwerkraft (Sch.) und von der Beziehung (Ch.) zum Sauerstoff ab;

9) Die Stabilität aller Platten überhaupt hängt vom Unterschiedsgrade im spezifischen Gewicht (Sp. Gew.) in verschiedenen Horizonten der Flüssigkeit ab;

10) die Erscheinungen in den künstlichen Platten, wie Säulen, bogenähnliche Konvexitäten zwischen denselben und gelichtete Felder um dieselben sind nur die Folgen des Fallens infolge der Schwere (folglich Sch.) und des Widerstandes (Wd.) des Mediums. Die Bedeutung der Diffusion und der Ströme ist bei der oben beschriebenen Art der Zubereitung eine geringe. Sie erscheint in bemerkbarer Weise nur dann, wenn die Reaktionen energisch vor sich gehen, oder wenn sich sehr schwere oder grobkörnige Sedimente (z. B.  $\text{BaCO}_3$ ) bilden, die sehr schnell fallen.

XIII. Das Studium der in der Fläche der Bakterienplatte vor sich gehenden Prozesse führt uns zum Schluß, daß es Prozesse der Zusammenziehung sind, und daß die hier tätige Hauptmasse die Chemotaxis ist. Dem Typus, den aufeinanderfolgenden Phasen nach unterscheidet sich diese Zusammenziehung durch nichts von der durch die Anziehungskraft hervorgerufene Zusammenziehung. In einem meiner vorhergehenden Artikel habe ich schon gesagt, daß „die Konfigurationen der Ansammlungen nur die Verbreitung der aktiven Kraft charakterisieren“, jedoch nicht ihre Natur. Wir sehen ein und dieselben Konfigurationen der Mengen — von den Mengen lebloser Teilchen, welche sich unter der Wirkung der Anziehung befinden, bis zu den Menschenmengen mit der kompliziertesten Aufnahme der äußeren Ursachen. Das mechanische Prinzip und seine räumliche Darstellungen sind einheitlich und müssen als Basis der allgemeinen Morphologie der Mengen dienen.

#### XIV. Erscheinungen in den Platten bei Störung der Ruhe des Mediums.

Was die Flüssigkeitsströme anbetrifft, welche durch ungleichmäßiges Erwärmen oder Abkühlen hervorgerufen sind, oder Ströme schweren Wassers, welche beim Auflösen der Salzkristalle entstehen u. s. w., so sind sie leicht zu bemerken, Berechnung anzustellen und ihnen eine entsprechende Bedeutung in den Erscheinungen anzuweisen, da sie genügend grob sind oder als solche gemacht werden können. Sie ziehen die Organismen mechanisch hinweg und breiten sich immer auf eine bedeutende Fläche aus.

1) Wenn man auf einige Sekunden einen warmen Gegenstand oder den Finger im Gebiet der Platte an das Glas anlegt, so erhebt sie sich an dieser Stelle und sinkt darauf unter die Platte, darauf erhebt sie sich von neuem, d. h. sie macht einige Schwankungen. Auf ähnliche Weise wirkt auch das Abkühlen.

2) Wenn man neben einer Säulenplatte ein Gefäß mit reinem Wasser stellt, so nimmt die Platte eine schräge Lage an. Mit den Säulen jedoch geschieht folgendes: Zuerst krümmen sich wellenartig die der Platte am nächsten stehenden Teile, darauf die untersten; erst allmählich verbreitet sich die Krümmung auf die ganze Länge der Säulen. Wenn man den Versuch fortführt, so vergrößert sich die Krümmung immer mehr, die Säulen verschwinden und endlich kann sich die Zone in schräg gelegene Zonen verteilen, welche von einander durch durchsichtige Streifen von Flüssigkeiten getrennt werden, folglich haben die Ströme der erwärmten Flüssigkeit die entgegengesetzte Wand des Gefäßes erreicht, längs der sie auch sinken.

3) Bei einer einmaligen Schwankung des Cylinders bildet sich fast immer in der Flüssigkeit eine stehende Welle. Ein jeder Teil der Flüssigkeit beschreibt eine ovale Kurve, welche bei der Gefäßwand in vertikaler Richtung stark gedehnt ist, in der Axe aber die liegende Ziffer 8 vorstellt. Je nach der Intensivität der Veränderung des spezifischen Gewichts bilden sich in der Flüssigkeitssäule einige breite Zonen mit entgegengesetzten Phasen der Schwankungen.

Infolge einer solchen Schwankung der Flüssigkeitsmoleküle schwanken die Punkte der Platte in vertikaler und die Punkte der Säulen in horizontaler Lage. Nach 3—4 regelmäßigen Schwankungen der Säulen treten einige Störungen ein, da die Schwingungsdauer der unteren schwereren Flüssigkeit kleiner ist, daher es scheint, als ob die wellenähnliche Schwankung der Säulen von unten komme.

Zum Beobachten dieser Erscheinungen sind die Milchplatten mit Säulen sehr geeignet; außerdem ist es hier sehr geeignet, den Zerfall der Säulen in Kügelchen zu beobachten — das Resultat der Zähigkeitsdifferenz der Säulenflüssigkeit und des umgebenden Mediums.

Nowo-Alexandia, 20. Mai 1897.  
1. Juni



*Nachdruck verboten.*

# ***Pseudomonas campestris* (Pammel).**

## **The cause of a brown rot in cruciferous plants.**

By

**Dr. Erwin F. Smith,**Asst. Pathologist, Division of Vegetable Physiology and Pathology,  
U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C., U. S. A.

With 1 Plate.

(Conclusion.)

**The Organism.**

This organism varies considerably in form. When it is crowded together in the vessels of the plant it is a very short rod with rounded ends and might very readily be taken for a *Micrococcus*, as it is often only slightly longer than broad. In the tiny zoogloea formed in the fluid extruding from the water pores it is also a short rod with rounded ends. In good culture media it lengthens out becoming two or three times as long as broad. In old cultures the rods become shorter the same as when crowded in the plant. It may be described as a small, straight, inflexible rod with distinctly rounded ends, of variable size, but usually 0,7 to 3,0 by 0,4 to 0,5  $\mu$ . When crowded together in the vessels of the host plant it is usually non-motile, but it is plainly motile in the host when the parts have been only very recently invaded and the individuals are not yet numerous. In culture media it is either non-motile, sluggishly motile, or actively motile, according to age, crowding, exhaustion of medium, etc. Tumbling and darting movements were both observed. The flagella were stained by Fischer's method as given by him in *Jahrb. f. w. Botanik*. Bd. XXVII. Heft 1. The covers were made from an agar culture about ten days old in which a large part of the individuals were actively motile. The organism has one long polar flagellum and therefore belongs in Dr. Migula's genus *Pseudomonas*, where I have ventured to place it as *Pseudomonas campestris* (Pammel). No spores have been observed and consequently, if one still desires to follow Cohn's classification, the name must be changed to *Bacterium campestre* (Pammel). Zoogloea are formed on solid media and in fluids and are conspicuous in the latter, consisting of aggregations of all sizes from half a dozen to several hundred or several thousand individuals. The free swimming forms are single or in pairs, very rarely in chains of four individuals. The tendency to form chains is very slight. The tendency to form irregular zoogloea aggregations is very strong and usually manifests itself early in the growth of the culture and at all temperatures.

The color of the organisms derived from the same colony varies somewhat on different media, and the colonies themselves are not always exactly the same shade of yellow. In my cultures the organism has seldom developed as bright a color as light cadmium. On

steamed potato cylinders where it grows most luxuriantly the yellow varies somewhat but generally approximates wax yellow (Ridgway: Nomenclature of Colors. 1886). The color of a thrifty potato culture about 15 days old is shown very well in fig. 4, but the surface is smoother and more wet shining than appears in the illustration or is possible to represent by lithography. The following shades of color were observed on various media: Primrose yellow, a very pale dirty yellow unlike any in Ridgway, maize yellow, wax yellow, dirty wax yellow, saffron yellow, Naples yellow, a shade between gallstone yellow and saffron, lemon yellow (light cadmium). This yellow color may be extracted by glycerol, ethyl alcohol, methyl alcohol, ammonium carbonate, or glacial acetic acid, in all of which it is feebly soluble. It is insoluble in sulfuric ether, chloroform, xylol, toluol, or carbon bisulphide, but the pigment is bleached or destroyed by immediate contact with these substances. This is especially marked in the case of carbon bisulphide, the yellow color giving place in a few hours to a white not unlike that of white lead. This color is lodged in the organism itself and not in the substratum. On the contrary, the brown pigment which is such a characteristic symptom of the disease, is a decomposition product lodged in the substratum. Apparently, it is produced from a substance present in cruciferous plants and absent from the potato, carrot, cocoa nut, beef broth etc. Fischer's method (Bot. Zeit. 1888 and Jahrb. f. w. Botanik. Bd. XXII) shows some of the vessels of cabbage and kale to be richly supplied with a substance reducing copper to reddish brown particles (yellow brown by reflected light) but I am not fully convinced that this is grape sugar or, if so, that the brown pigment is formed out of it. My reason for doubting it is that I have been unable to get this pigment in beef broth containing muscle sugar, in peptone water containing Merck's grape sugar, or in peptone water containing any of the carbohydrates mentioned below as tested in the fermentation tubes. The copper reducing substance was abundant in some vessels and absent in others of the same bundle. Most often the copper dots were closely attached to the spiral thread of the vessels but occasionally they seemed to lie free inside of the vessel.

The following notes on the behavior of the organism in various media will serve to help out Prof. Pammel's description.

**Beef Bouillon.** Organism grows well in feebly alkaline beef broth (sodium carbonate). It clouds the bouillon and renders it moderately turbid with numerous small zoogloea which after several days show a more or less marked inclination to gather in the upper layers of the fluid (oxygen hunger). These zoogloea seldom form a distinct pellicle, but often gather on the wall of the tube at the surface of the liquid in the form of a pale yellow ring, or form loosely connected and easily disintegrated floating islands. Precipitate more or less copious and distinctly yellow.

**Cabbage Broth.** The organism grows well in cabbage broth heavily clouding it and causing a copious pale yellow precipitate but not rendering it very decidedly brown. This broth was made by

boiling a few cabbage leaves in distilled water. It yielded a large amount of gas when inoculated with *Bacillus cloacae*.

**Litmus Cabbage Broth.** This was made by adding to test tubes of the proceeding broth a few drops of an aqueous solution of Trommsdorf's blue litmus and re-sterilizing in the ordinary way. Only enough litmus was added to make the broth a decided pale red. The organism when grown in this fluid caused no additional reddening of the litmus but after a few days the litmus lost its color except in the top layers of the fluid where it was into closest contact with the air.

**Gelatin.** Organism grows feebly on strongly alkaline (NaOH) beef broth peptone gelatin (neutral to phenolphthalein) and will not grow at all if the alkalinity is pushed a little farther. It also grew very feebly on this gelatin when brought back to feeble (litmus) alkalinity (22° of Fuller's scale) by means of c. p. HCl. This was ascribed to the presence of too much NaCl. It also grew feebly on a slightly (litmus) acid gelatin made as follows: Finely minced lean beef 500 grams; distilled water 1,000 cc.; best white French gelatin 10 grams; Witte's peptonum siccum 10 grams; enough KOH to make neutral to litmus. After sterilization it was again tested and found to be very feebly acid to good neutral litmus paper. I am unable to explain the slight growth on this gelatin unless it is that the gelatin contained unneutralized acid phosphates in restraining quantities, although undetected by the litmus<sup>1</sup>). The litmus paper used was the best procurable neutral paper, one sample made in Div. of Chem., U. S. Dep. Agric., and the other procured from H. Struers, of Copenhagen. On all of these gelatins, except the one containing excess of salt, there was a slow and feeble but distinct liquefaction. There was no liquefaction of the salty gelatin but the growth was very feeble. The organism grew best on a feebly alkaline (KOH) beef broth peptone gelatin. Liquefaction began in 24 hours and in 15 days at 17° to 19° C the entire 10 ccm of gelatin became fluid and there was a copious rather bright yellow precipitate. This gelatin was part of the same stock as the slightly (litmus) acid gelatin above mentioned, and differed from it only in having received more KOH. It was not titrated, but was feebly alkaline to good neutral litmus paper.

**Agar.** The organism grew best on an agar of the following composition: Finely minced lean beef 1,000 grams; distilled water 2,000 ccm; covered and allowed to stand some hours, then brought slowly up to 65° C on a water bath, and subsequently steamed and filtered; Merck's brown peptone from meat 20 grams; Lautenschläger's agar flour 20 grams; steamed; cooled and added whites of 10 eggs to clarify; resteamed and filtered. The eggs had probably been limed by the grocer as they were quite strongly alkaline. On titrating with phenolphthalein the medium was found to be 22° of Fuller's scale (slightly alkaline to good neutral litmus paper) and consequently no alkali was added. Ordinarily, I neutralize the egg albumen with HCl and subsequently render the medium alkaline with

---

1) On titrating, this gelatin was found to be decidedly acid to phenolphthalein

**NaOH.** This agar was quite brown from the use of Merck's brown peptone, but was very clear and showed off the colonies and streaks to better advantage than whiter agars made with Witte's peptonum siccum. The growth on this brown agar, and also on several others, was thin and inclined to spread widely, i. e. far beyond the track of the loop, even when the surface of the agar was rather dry. Buried colonies in the shake and plate cultures developed slowly and were either round or irregular in shape (roundish, oblong, or variously angled) and the margins were rather rough (Zeiss, apochrom. 16 mm and 12 comp. ocular). The surface colonies developed neither slowly nor rapidly, but at a moderate pace. According to the number in the plate they varied in size at the end of the second week from  $\frac{1}{2}$  to 1 mm in the crowded plates, and from 3 to 9 mm in the thinly sowed plates. They were circular, or nearly so, and thin, with a clean well defined margin, pale yellow, smooth, wet-shining. The color on agar was between wax yellow (R. VI. 7) and maize yellow (R. VI. 21), or sometimes between gallstone yellow (R. VI. 6) and saffron yellow (R. VI. 4). Large crystals of ammonium magnesium phosphate formed in numbers after a few days both in the plates and in the streak cultures and were clearly attributable to reactions set up in the substratum by the ammonia developed as a result of the growth of the organism. Usually, they first appeared as branched feathery radiations from the colonies or from the underside of the streak. None appeared in the un-inoculated tubes as they dried out, or in a lily broth agar inoculated for comparison.

**Potato.** The growth was very prompt and vigorous on steamed potato cylinders resting in several ccm of distilled water. In a few days the entire aerial part of the cylinder was covered with a copious, wet-shining dirty yellow layer, and in two or three weeks at room temperatures (20° to 26° C) the organism always filled the entire space between the potato and the walls of the tube with a dense growth completely hiding the potato. The color of this growth (cultures 11 to 30 days old) was approximately wax yellow (R. VI. 7). Rarely, in places, on the walls of the tube, this growth was as bright as saffron yellow (R. VI. 4). The potato cylinders were not stained brown nor materially softened, and there was no odor, or if any, so slight a one that I was unable to detect it. The interior of such cylinders (acid when inoculated) was feebly alkaline to neutral litmus paper.

**Carrot.** A prompt and copious growth, sometimes obscuring the deep orange red of the substratum and at other times allowing the latter to show through. Color when brightest approximately saffron yellow. Carrot is not well adapted to show the yellow color of the organism but otherwise it is a satisfactory substratum.

**Beet.** Small red turnip-rooted table beets were selected for this purpose. They were pared, cut into long slices, put into sterile test tubes, nearly covered with distilled water, and steamed 20 to 30 minutes on three consecutive days. The successive steamings reduced the red color of the beet and the surrounding water to a dull brownish claret color, unlike any in Ridgway but lying between his

burnt sienna and his brick red. On the surface of these beets, in the air, the organism made a prompt and copious pale yellow growth while the fluid returned to its original bright red color. This change of color took place in two or three days and was very striking. On first thought it seemed as if it must be due to the production of some acid, but the fluid was found slightly alkaline to neutral litmus paper. The explanation is probably to be sought in the re-oxidation of the red color of the beet which has become reduced by the successive boilings in the presence of sugar. It is promptly destroyed on steaming the cultures, but comes back in a few days if the tubes are re-inoculated. Some attempts were made to produce this bright red artificially by addition to the check tubes of various chemicals, such as  $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{N}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , and ozone, but without success.

**Onion.** This culture medium was made from slices of a sweet Bermuda onion which were put into test tubes, covered or nearly covered with distilled water, and steamed for a few minutes on three consecutive days. The organism grew well in this medium forming a pale yellow slime and a rather copious pale precipitate. After some weeks numerous small bright yellow (sulfur yellow) bodies appeared in all of the inoculated tubes. These bodies adhered to the walls of the tube and were also on and in the substratum and were readily distinguished from the bacterial growth by their brighter color and by their shape. All were roundish in outline and radiate in structure, appearing under the hand lens to be some short of crystal complexes. Under higher powers many of them had a less definite structure being composed in part at least of twisted and tangled colorless threads radiating from a common center the structure of which could not be made out clearly. Even these, however, behaved like crystals when examined in polarized light. None of these bodies appeared in the uninoculated tubes or in cultures of this organism in other media. The nature of these bodies is left for future determination. They are insoluble in water and did not melt on warming over a flame. On addition of nitric acid they changed quickly to dark brown and slowly dissolved with evolution of gas. In sulfuric acid they dissolved without evolution of gas leaving a yellow color diffused through the liquid. They appeared to be unchanged by glacial acetic acid or by formic acid. In caustic potash water they dissolved quickly with the formation of a few bubbles and a bright yellow color diffused through the fluid. The same phenomena appeared when caustic soda was used. In strong ammonia water they soon disappeared leaving a diffused yellow color which also soon disappeared. They are readily soluble in absolute ethyl alcohol. Insoluble in sulfuric ether, chloroform, or carbon bisulphide. Changed from bright yellow to brown on addition of 1% chromic acid water.

**Orange.** This culture medium was made from segments of a rather tart but palatable California Navel orange. These were put into sterile cotton plugged test tubes, covered with distilled water, and steamed in the usual way, i. e. a few minutes on three con-

secutive days. The fluid in these tubes was quite acid to neutral litmus but not so much so that various fungi would not grow in it, i. e. *Fusarium*, *Penicillium*. The organism refused altogether to grow in this medium. The fluid in one of these tubes was subsequently titrated hot with caustic soda and found to be strongly acid to phenolphthalein, 1 cc. requiring 1.74 cc. of  $\frac{N}{10}$  soda to make it neutral.

On long standing the horseradish cultures became dark brown.

**Cocoa nut Flesh.** The organism grew satisfactorily on the flesh of the cocoa nut, steamed in distilled water, forming a thin yellow layer on the part projecting from the water. The growth was much less abundant than on potato, but the pure white color of the substratum brought out the yellow color of the bacteria to advantage. The color on the cocoa nut (cultures 3, 7, and 14 days old) approximated Naples yellow (R. VI. 18). It was brighter than on potato but never as bright as light cadmium.

**Cruciferous substrata.** These consisted of slices of radish and horse-radish roots, yellow and white turnips, and the bases of cabbage and cauliflower leaves, half covered with distilled water and steamed in sterile cotton plugged test tubes. On these substrata the organism grew promptly and with great vigor, excepting the horseradish on which the growth was a little slow at first but afterwards abundant. The yellow color was brightest on the cauliflower (approximately lemon yellow or light cadmium, R. VI. 11) and duldest on the turnip (a color varying from primrose yellow, R. VI. 13, to a dirty pale yellow unlike any in Ridgway). In the tubes containing slices of turnip the fluid became brown. This change of color was noticeable within a few days and gradually increased until at the end of some weeks the color of the water was between bistre (R. III. 6) and mummy brown (R. III. 10). Check tubes showed no change of color. There was also a slight browning of the fluid in the tubes containing the radish roots and the cauliflower petioles, but it was especially noticeable only in the turnip. After some weeks, however, the tubes of horse radish also became decidedly brown.

No such brown color was obtained from any of the non-cruciferous substrata or in any of the fermentation tubes, nor have I obtained anything comparable to it with other yellow bacteria grown on cruciferous substrata except in case of Wakker's hyacinth germ. Possibly it may prove of differential value.

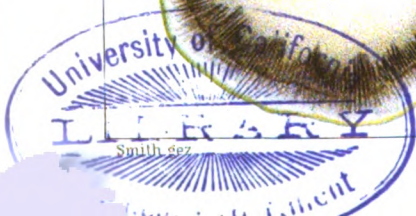
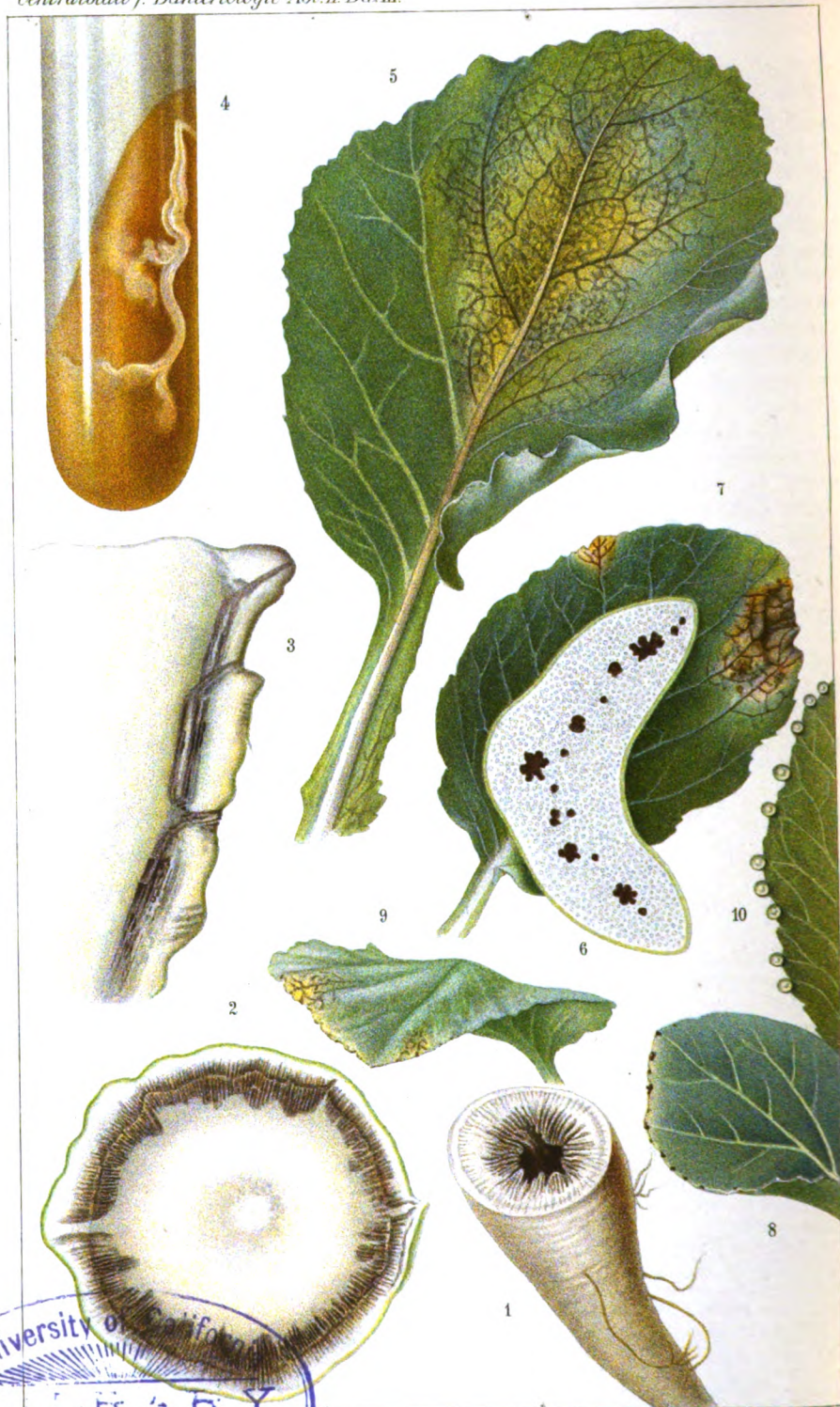
**Fermentation tubes.** The ability of this organism to ferment carbohydrates was carefully tested in fermentation tubes in the manner described by Dr. Theobald Smith, except that owing to the difficulty of obtaining beef bouillon free from muscle sugar I made use of peptone water (1% Witte peptonum siccum in distilled water) to which was added 1% of the carbohydrate to be tested. In this manner the following substances were tried: grape sugar (Merck's c. p. anhydrous); fruit sugar (Schering's Diabetine, which is said by the manufacturers to be "absolutely free from dextrose or other kinds of sugar" but to contain "some lactic acid added to increase

its keeping qualities"); cane sugar (a sample of white granular commercial, believed to be very pure); milk sugar (Merck's c. p., once re-crystallized); galactose (Merck's pure); maltose (Merck's c. p. in which the polariscope shows no adulteration); dextrine (ten times precipitated with alcohol in Div. of Chem., U. S. Dep. Ag.); mannitol (Merck's c. p. in which the polariscope shows no impurity); glycerol (Schering's twice dist., strictly c. p., sp. gr. 30. 8° Bé.). No gas or acid was produced from any of these substances and none of them caused any distinct clouding of the closed end of the tube (four weeks trial). The organism grew in all of these tubes but the clouding and turbidity was confined to the open end and the outer  $\frac{3}{4}$  of the U. Like results were obtained with fermentation tubes containing potato broth, cabbage broth and cauliflower broth. The fluids were tested from time to time with sensitive neutral litmus paper and all of them were always alkaline, the degree of the alkalinity increasing with the age of the culture. Upon drying, the blue color disappeared from the paper. Most if not all of this alkali is ammonia. We may, therefore, conclude, at least provisionally, that this organism is never a gas or acid producer, and that it requires free oxygen for its growth. This last inference is also warranted by the feeble growth of the buried colonies, and by the slow progress of the bacteria from one leaf-trace or group of bundles to another inside the stem of cabbage and kale plants.

**Thermal relations.** The thermal relations of this parasite offer nothing of very special interest. I am not able to state definitely the minimum temperature at which growth ceases, but it is below 7° C. In beef broth in the ice box at 5° to 7° C the organism grew very slowly. It grew better but still feebly at 10° C. It grew well in the cool box at 17° to 19° C. It grew luxuriantly in various media at room temperatures of 21° to 23° C. The optimum for growth probably lies between 25° and 30° but has not been worked out rigidly. Growth in the thermostat at 37° to 38° proceeds very slowly. At this temperature tubes of beef bouillon clouded only after several days and never became more than very feebly clouded, while slant tubes of the brown agar yielded no growth visible to the naked eye, not even after three weeks, nor did any growth appear when they were removed to room temperatures. Check tubes of bouillon and agar at room temperatures yielded an abundant growth in 24 to 48 hours. The growth on potato at blood heat was also very feeble and after three weeks was not  $\frac{1}{100}$  part as abundant as after one week at room temperatures. In the beef broth the zoogloea were small and showed a tendency to hug the bottom of the tubes. From these results it is inferred that the organism is not pathogenic to warm-blooded animals. No animal inoculations were tried. In a thermostat at approximately 40° C all growth ceased, the tubes of beef broth remaining clear as long as the experiment continued (14 days). These tubes were afterward removed and left at room temperatures for 12 days but no growth ensued. Check tubes at room temperatures clouded in 48 hours. The thermal death point is approximately 51° C (ten minutes exposure in 10 ccm beef bouillon







in thin walled test tubes of 17.2 mm diameter, in hot water bath. By far the larger part of the individuals were killed at 50° C. At 50.75° C only one individual in five or ten thousand escaped.

Summary. For convenient reference I have drawn up the following brief account of the organism.

*Pseudomonas campestris* (Pammel). Yellow, rod-shaped, motile, micro-organism. Size and color varying according to substratum, food supply, etc. Generally  $0.7$  to  $3.0 \times 0.4$  to  $0.5 \mu$ . Color dull wax yellow to canary yellow. Occasionally as bright as light cadmium or as pale as primrose yellow (Ridgway's color scale). One polar flagellum. Non sporiferous, so far as known. Pathogenic for various Cruciferous plants, entering and dwarfing or destroying the host plant through the vascular system which becomes decidedly brown. Aërobic but, so far as known, not a gas or acid producer, i. e. not facultative anaërobic. Forms cavities around the bundles but seems to be only feebly destructive to cellulose. Produces a brown pigment in the host plants and on steamed Cruciferous substrata, especially the turnip. Grows very rapidly on steamed potato cylinders at room temperatures but without odor or the formation of any brown pigment. Liquefies gelatin. Grows feebly at 7° C better at 10° C but still feebly; grows well at 17° to 19° C; grows luxuriantly at 21° to 26° C; grows very feebly at 37° to 38° C; will not grow at 40° C; and is killed by 10 minutes exposure to 51° C. Organism closely related to Wakker's *Bacterium hyacinthi* from which it differs, so far as I have been able to observe, chiefly in its pathogenic properties, its duller yellow color and its higher thermal death point.

Washington, D. C., March 1, 1897.

#### Explanation of plate.

1. Turnip from a field near Baltimore, Maryland, showing the internal brown rot and the failure of the plant to make any "bottom". Sept. 1896.
2. Cross-section of a cabbage stump from Racine, Wisconsin, showing the restriction of the disease to the vascular cylinder. Outer bark and the pith still healthy. Vessels full of bacteria and lignified walls of the vessels stained deep brown. Oct. 1896.
3. Longitudinal section of cabbage stem from same source as No. 2, showing how the disease passes in or out of the stem through the leaf traces. Chlorophyll has developed in proximity to the bundles.
4. A potato culture of *Pseudomonas campestris* (Pammel) about 15 days old, showing its color and the luxuriance of its growth. The lighter portion is where the growth thins out on the wall of the tube. Grown at room temperatures ranging from 21° to 25° C.
5. Characteristic yellowing and black veining of a cabbage leaf, due to the growth of *Pseudomonas campestris* (Pammel) inside of the vessels of the veins. Plant inoculated from a pure culture Dec. 19, by means of needle pricks into the stem. This leaf stood some distance above the pricked area and the painting was made Jan. 6. In this instance the infective material came from one of the Baltimore turnips, but many equally successful infections were obtained with the organism isolated from the Racine cabbages.
6. Cross-section of the basal part of the petiole of a kale leaf, in the same stage of disease as No. 5. Bundles clogged with the germ and stained deep brown; parenchymatic tissue still healthy. Plant inoculated by needle pricks into the stem Dec. 19. Painted Jan. 12.
- 7, 8, 9. Cabbage leaves showing various stages of marginal infection, i. e. infection through the water pores. No. 7. An accidental infection, germs prob-

ably carried by slugs or spread by the gardener in watering. Nos. 8 and 9. Early stages of infections obtained by plunging the upper part of the leaf into distilled water containing a trace of beef broth and inoculated from a pure culture of the organism.

10. Margin of a cabbage leaf after a cool moist night, showing extrusion of water from the pores in liquid form. These tiny beads of water often remain on the edge of the leaf for six hours or more, and contain an abundance of pabulum for the growth and division of the bacteria which may have accidentally lodged on the apex of a leaf tooth. After these bodies have divided nothing hinders the then motile rods from swimming into the water pores and subsequently finding their way into the vessels and infecting the leaf.

## Zusammenfassende Uebersichten.

*Nachdruck verboten.*

### Die Reinhefe in der Weinbereitung.

Ein historischer Ueberblick.

Von

Dr. J. Behrens

in

Karlsruhe.

(Schluß.)

Im fünften Jahresberichte der deutsch-schweizerischen Versuchstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädensweil 1894/95 berichtet Müller-Thurgau weiter über „die Züchtung von Heferassen für bestimmte Zwecke“ mittels der Methode der natürlichen Auslese<sup>1)</sup>: Der Trub wird wiederholt umgögoren in sterilisierten Mosten von ähnlicher Beschaffenheit wie die Gärflüssigkeiten, zu deren Vergärung die zu züchtende Reinhefe dienen soll. Insbesondere diente dieses Verfahren zur Züchtung von Rotweinhefen, die dem hohen Gerbstoffgehalte des Rotweinmostes besser angepaßt wären als die Weißweinhefen. Vergleichende Gärversuche mit typischen Weißwein- und Rotweinhefen in Weißweinmost und Rotweinmaische ergaben denn auch nicht nur die Ueberlegenheit der Rotweinhefen über die Weißweinhefen in Rotweinmaische, sondern auch umgekehrt die Ueberlegenheit der Weißweinhefen im Weißweinmost über die Rotweinhefen. Auch die gerbstoffreichen Birnmoste verlangen besonders gegen Gerbstoff widerstandsfähige Heferassen. In demselben Berichte<sup>2)</sup> ist zum ersten Male energisch die wichtige Frage in Angriff genommen, wie sich das Zusammenwirken der Reinhefe mit der Eigenhefe, also verschiedener Heferassen, gestaltet. Schon die ersten Versuche mit Birnmost zeigten, daß beim Zusammenwirken zweier Heferassen keineswegs eine einfache Summierung der Wirkungen stattfindet, die jede Hefe für sich haben würde. Wurde neben der gärkräftigen Steinberger die schwache Karthaushefe zugesät, so

1) Wädensweil 1896. p. 72.

2) p. 76.

war der Gärverlauf ungefähr ebenso, wie wenn die erstere allein ausgesät wurde: Die gärschwächere Rasse ist also von der kräftigeren einfach unterdrückt. Dagegen war die Gesamtwirkung der beiden kräftigen Heferassen, Steinberger und Wädensweiler, immerhin weit energischer als die jeder einzelnen für sich; beide kamen also zur Geltung. Ausgedehnte Versuche bestätigten weiterhin die schon früher konstatierte schädliche Wirkung des *Saccharomyces apiculatus* auf gärkräftigere Heferassen. Dabei stellte sich heraus, daß verschiedene Heferassen auch eine verschiedene Widerstandsfähigkeit gegenüber der *Apiculatus*hefe besitzen. In Traubensaft war die aus Birnenwein stammende Wädensweiler Hefe die resistanteste, während sie für sich allein in der Gärthätigkeit von der Steinberger Hefe übertroffen wurde. Im Birnmost schlug sie in beiden Fällen, mit und ohne *Apiculatus*hefe, alle anderen Hefen. Um die Ursache der gärungshemmenden Wirkung des *Saccharomyces apiculatus* zu finden, wurden die bei einer Versuchsreihe erhaltenen Weine einer chemischen Analyse unterworfen, bei der sich herausstellte, daß die *Apiculatus*hefe im Moste viel flüchtige Säuren erzeugt, welche die Gärung hemmen könnten. Vielleicht verbinden diese sich bei der weiteren Gärung mit neu entstehendem Alkohol zu weniger gärungshemmenden Estern, womit der Fruchtgeschmack der mit *Apiculatus*hefe vergorenen Weine, sowie der Umstand im Einklang stehen würde, daß die Gärungshemmung abnimmt, wenn die Thätigkeit der zugespitzten Hefe durch den zunehmenden Alkoholgehalt eingeschränkt ist, also neue flüchtige Säure nicht mehr gebildet wird. Der Beweis für diese Anschauung ist noch zu erbringen; es ist ja sehr wohl möglich, daß noch andere gärungshemmende Stoffe gebildet werden, die durch die angewandten analytischen Methoden nicht nachzuweisen sind.

Bezüglich der Abgabe der Reinhefen an die Praxis <sup>1)</sup> wird die alte Methode beibehalten. Die Hefe wird als dünnflüssiger Brei in Fläschchen abgegeben, deren jedes die Hefe aus 1,5 l Züchtungsflüssigkeit enthält. Um der Praxis einerseits den Bezug geeigneter und reiner Hefen zu sichern, andererseits die Versuchsstation zu entlasten, wird die Einrichtung einer Hefereinzuchtstation geplant.

Außer den beiden Anstalten in Geißenheim und Wädensweil existieren auch im deutschen Sprachgebiete noch zahlreiche andere, meist nichtstaatliche Institute, welche reine Weinhefen zur Abgabe an die Praktiker züchten. Der Fortschritt der ganzen Sache, ihr wissenschaftlicher Aufbau und Ausbau ist aber fast ausschließlich an die beiden genannten Anstalten geknüpft und insbesondere den grundlegenden Arbeiten Wortmann's zu verdanken. Vor mir liegt eine Publikation des chemisch-technischen und hygienischen Instituts von Dr. Popp und Dr. Becker in Frankfurt a. M., die sich z. B. ebenfalls mit der Anzüchtung und der Abgabe von Weinhefen befassen. Die Broschüre <sup>2)</sup> bringt nichts Neues und charakterisiert sich durch die ganze Art der Darstellung als eine Reklameschrift. So wird (p. 6)

<sup>1)</sup> p. 97.

<sup>2)</sup> Ueber die Verwendung rein gezüchteter Hefen im Gärungsprozeß. II. (ohne Jahr, aber wohl aus 1895 stammend).

in Berücksichtigung des Umstandes, daß man in Qualitätsgegenden stets dort heimische gute Heferassen in erster Linie verwenden sollte, versprochen, daß im Institute von Popp und Becker Vorkehrungen getroffen seien, „daß wir von eingesandten Trauben und Mosten sehr rasch die geeignetsten Heferassen rein züchten können, was wohl manchem Besitzer einer besonders guten Weinlage nicht ohne Interesse sein dürfte“. Eine Reinhefe zu züchten, gelingt freilich sehr rasch; die geeignetste sehr rasch herauszufinden, ist wohl Fabrikgeheimnis. Dem nicht Eingeweihten erscheint eben dieser Punkt als der schwierige und unter Umständen erst nach Jahren zu erledigende. Eigentümlich berührt auch die (p. 4 u. 5) mitgeteilte Eigenschaft der Reinhefen, Essigsäure in verschiedener Menge zu bilden.

Soweit wir bisher die Einführung und die Erfolge der Reinhefe in die Weinbereitung betrachtet haben, sucht man das Ziel, im Moste die Eigenhefe samt den vorhandenen Weinschädlingen möglichst zu unterdrücken und ausschließlich die zugefügte Reinhefe zur Wirkung kommen zu lassen, allgemein nur dadurch zu erreichen, daß man den Reinhefezusatz möglichst reichlich und in möglichst gärkräftiger Verfassung bemißt. Auf einen vollständigen Ausschluß der im Moste spontan vorhandenen Flora verzichtete man, weil man die Unmöglichkeit einsah, den Most ohne Schaden für die Qualität des Weines durch Hitze zu sterilisieren, andere Wege aber für ungangbar hielt. Wir haben gesehen, daß gerade wegen dieser Unmöglichkeit Müller-Thurgau sich 1886 auf dem Rüdesheimer Kongresse von der Anwendung der Reinhefe für die Zwecke der Weinbereitung nichts versprach. Müller-Thurgau hat nun in neuester Zeit seine Thätigkeit auch dieser Seite der Hefefrage zugewandt, zunächst allerdings in anderer Absicht. Er verfolgt das Ziel, den Rebensaft im unvergorenen Zustande für Genußzwecke zu konservieren<sup>1)</sup>. Dasselbe wird erreicht durch Erwärmen des Mostes. Schon Pasteur war schließlich zu dem Resultate gekommen, daß es zur Konservierung des Weines genüge, denselben nicht auf 75°, wie er ursprünglich vorgeschlagen hatte, zu erwärmen, sondern nur auf 50–60°. Eine exakte Untersuchung von C. Schulze im Geisenheimer Institute<sup>2)</sup> stellte dann fest, daß sogar schon eine 2-stündige Pasteurisation bei 45° auf im Weine befindliche Hefen auch bei geringeren Alkoholmengen unbedingt tödlich wirkt, also Temperaturen zur Konservierung und Verhinderung von Nachgärungen genügen, bei denen eine Schädigung der Qualität, ein Entstehen von Kochgeschmack ganz ausgeschlossen ist. Allerdings trübt sich der Wein bei der Erwärmung selbst auf diese niedere Temperatur. Wird diese Trübung aber durch Filtration entfernt und nachträglich der Wein nochmals pasteurisiert mit der Vorsicht, daß die Temperatur nicht höher steige als beim ersten Male, so bleibt der Wein jetzt vollkommen blank und glanzhell.

Beim Erwärmen des Mostes machte Müller-Thurgau genau

1) Müller-Thurgau, Die Herstellung unvergorener und alkoholfreier Obst- und Traubenweine. Frauenfeld 1896. (4. Aufl. 1897.) Vergl. auch V. Jahresbericht. 1896. p. 67–72.

2) C. Schulze, Die Anwendung des Pasteurisierens gegen Nachgärungen der Weine auf den Flaschen. (Landw. Jahrb. Bd. XXIV. 1895. p. 408 ff.)

dieselben Beobachtungen. Um die vorhandenen Organismen, soweit sie für die Konservierung des Mostes in Betracht kommen, sicher zu töten, sind freilich höhere Temperaturen nötig. Immerhin genügt, um selbst die widerstandsfähigsten Schädlingskeime, die Sporen des *Penicillium glaucum*, sicher zu töten, eine halbstündige Erwärmung auf 60° C. Dabei trübt sich der Most und muß zur Klärung filtriert werden, was sich nach dem Erwärmen sehr leicht und schnell machen läßt. Erwärmt man dann den geklärten Most zum zweiten Male, wie es zur Konservierung nötig ist, so genügt es, die Temperatur nicht höher steigen zu lassen als bei der ersten Erwärmung, um mit Sicherheit zu vermeiden, daß der Most sich wieder trübt. Um „alkoholfreien Rotwein“, d. h. konservierten roten Most, zu bereiten, werden am besten die von Kämmen und Kernen möglichst getrennten Hölzen mit dem Saft zusammen erwärmt, wobei der Farbstoff aus den getöteten Hölzenzellen austritt.

Wie schon oben gesagt, verfolgt Müller-Thurgau nur das Ziel, den Most im Dienste der Temperenzbewegung und besonders für Traubenkuren zu konservieren. Das Verfahren soll nicht dazu dienen, Most zur reinen Vergärung im praktischen Betriebe vorzubereiten. Vielleicht aber läßt es sich dahin ausarbeiten, um so eher, wenn sich die Angaben von Rosenstiehl und Kühn bewährten sollten, daß Most beim Erhitzen unter Ausschuß des Sauerstoffes der Luft überhaupt keinen Kochgeschmack annimmt<sup>1)</sup>. Wenn nicht unmittelbar, so ist die Sache doch indirekt für die Praxis insofern von Bedeutung, als das wissenschaftliche Studium der Reihhefen unter den Verhältnissen der praktischen Kellerwirtschaft damit ermöglicht wäre, was jedenfalls auch für die praktische Verwendung der Reihhefen wertvolles Material liefern würde<sup>2)</sup>. Es erscheint ja sehr fraglich, ob es für die Praxis bei den günstigen Erfolgen, welche die bisherige Art des Reihhefezusatzes zum Moste und Weine erzielt, lohnend wäre, zu dem immerhin kostspieligen Sterilisieren der Gärflüssigkeit überzugehen, selbst wenn dies ganz gefahrlos und sogar bis zu einem gewissen Grade vorteilhaft wäre.

Auch andere Methoden, den Most von Hefe und Pilzkeimen zu befreien, wurden von Müller-Thurgau erprobt. Sie ergaben indes ein ungünstiges Resultat. Das Centrifugieren reinigt allerdings den Most von Unreinigkeiten und Pilzen in hohem Grade, aber nichts weniger als vollständig. Der Filtration des frischen Mostes stellen sich große Hindernisse entgegen, indem die Filter durch die schleimigen Bestandteile rasch verstopft werden. Die Filtration durch Filter, welche alle Pilzkeime zurückhalten, ist umständlich und kostspielig und verläuft selbst bei großen Apparaten zu langsam, als daß man größere Mengen schnell genug verarbeiten könnte. In Uebereinstimmung mit Lafar's Untersuchungen über die Wirkung des Enzingerfilters erwies sich die Filtration im praktischen Betriebe für die Zwecke der Konservierung des Mostes als durchaus unsicher.

1) Vergl. *Revue de viticulture*. Année IV. T. VII. 1897. No. 170. p. 325 und No. 172. p. 390.

2) Ueber solche Versuche berichtet neuerdings Kayser, *Le chauffage des moûts*. (*Revue de viticulture*. Année IV. T. VII. 1897. p. 553.)

Zur Erzielung reiner Gärung hat neuerdings Forti Centrifugieren und Filtrieren des Mostes vor dem Zusatz der Reihefe angewandt<sup>1)</sup>).

Von gärungshemmenden Mitteln kann nur das Einbrennen, der Zusatz von schwefliger Säure, in Frage kommen und wird auch manchmal zum Stummachen des Mostes verwendet. Zum Konservieren von Most zu Genußzwecken kann schweflige Säure natürlich nicht verwendet werden. Dagegen glaubt Müller-Thurgau neuerdings, in richtig bemessenem Einbrennen ein Mittel zur Erzielung reinerer Gärung gefunden zu haben<sup>2)</sup>. Seine Versuche, die sowohl mit Glasgefäßen im Laboratorium, als auch mit Fässern im Keller angestellt wurden, ließen in der That erkennen, daß bei richtig bemessenem Einbrennen die Hefe lebend erhalten bleibt, während Schimmelpilze und einige Bakterienarten, besonders die für säurearme Obstweine so gefährlichen Milchsäurebakterien getötet werden. Obgleich auch ein Versuch mit Traubenwein eine günstige Wirkung des Einbrennens ergab, empfiehlt Müller das Verfahren zunächst nur für Birnwein (Theilersbirnen), dessen Haltbarkeit in Jahren, wo die Birnenernte bei warmer Witterung stattfindet, sonst kaum zu erzielen ist. Es muß den in Aussicht gestellten weiteren Untersuchungen überlassen bleiben, festzustellen, ob das Verfahren allgemeiner anwendbar ist, und wie sich die hier mitgeteilten Erfahrungen mit der auf Grund früherer Versuchsergebnisse sonst allgemein angenommenen besonderen Empfindlichkeit der Hefe gegen schweflige Säure in Uebereinstimmung bringen lassen.

Müller-Thurgau's Bestrebungen begegnen sich hier mit solchen, welche Schnell in seinem früher schon erwähnten Vortrage<sup>3)</sup> 1894 mitgeteilt hat, welche aber von anderen Gesichtspunkten aus unternommen waren. Schnell geht aus von den günstigen Ergebnissen, welche im Brennereibetriebe auf Grund der Effrontschen Untersuchungen mit Hefen gewonnen sind, die durch wiederholte Umzüchtungen an immer stärkere Gaben von antiseptischen Substanzen (Fluorsalze etc.) gewöhnt waren. „Selbstverständlich kann nun bei einem Getränk, das zum unmittelbaren menschlichen Genuß bestimmt ist, von der Verwendung fluorhaltiger Substanzen keine Rede sein. Wir besitzen aber dafür einen schon jetzt in der Kellereiwirtschaft ganz allgemein angewandten Stoff von durchaus ähnlicher Wirkung, und das ist die Schwefligsäure. Wenn es gelänge, durch öfters wiederholte Umzüchtung in Nährlösungen mit steigendem Gehalte an Schwefligsäure die Reihefen an größere Dosen dieses

1) Forti, Relazione sugli studi zimotecnici. I. Relazione intorno agli esperimenti di centrifugazione di mosti d'uva e di vinificazione eseguiti presso la fondazione per l'istruzione agraria in Perugia. (Bollettino di notizie agrarie. Anno XVIII. 1896. No. 37. p. 363.)

2) Anwendung des Schwefels zur Erzielung reinerer Gärung. (V. Jahresbericht der Versuchsstation und Schule zu Wädenswil 1894/95. Wädenswil 1896. p. 98.) — Zur Anwendung des Schwefels behufs Erzielung reinerer Gärung. (Weinbau und Weinhandel. Bd. XV. 1897. No. 13.) — Einbrennen von Obst- und Traubenwein zur Erzielung reinerer Gärung. (Schweiz. Zeitschr. für Obst- und Weinbau. Bd. VI. 1897. p. 49.)

3) Zeitschr. für angewandte Chemie. 1894. Heft 14.



Körpers zu gewöhnen, so wäre damit der denkbar einfachste Weg zur Erreichung des uns vorschwebenden Zieles gezeigt; man hätte nur im Herbst die zur Aufnahme des frischen Mostes bestimmten Gärfässer oder auch diesen selbst soweit einzuschwefeln, daß die gesamten in ihm enthaltenen Mikroorganismen außer Wirksamkeit gesetzt würden und dann die gegen Schwefligsäure widerstandsfähige Reinhefe zuzusetzen.“ Diese würde dann den Wein allein vergären, ihn bedeutend reintoniger und besser machen und alle Krankheiten ausschließen. Eine andere Frage ist, wie man die schweflige Säure wieder aus dem Weine hinausschaffen soll, und hauptsächlich, ob es gelingen würde, die Hefe in der gewünschten Weise an die schweflige Säure zu gewöhnen. Der Verf. fährt fort: „Für heute kann ich nur sagen, daß die wenigen orientierenden Versuche, die ich bisher in dieser Richtung anstellen konnte, einen Erfolg nicht unmöglich erscheinen lassen.“ Ein weiterer Bericht steht indessen noch immer aus, und die Frage ist also bisher noch ungelöst<sup>1)</sup>.

### Referate.

**Koch, Alfred**, Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungs-Organismen. IV. Jahrg. 1893. Braunschweig 1894.

Dasselbe, V. Jahrg. 1894. Braunschweig 1896.

Wenn wir den 4. und 5. Band von Koch's Jahresbericht hier, z. T. etwas sehr verspätet, anzeigen, so geschieht es nicht, um denselben jetzt noch zu besprechen. Es hieße Eulen nach Athen tragen, wenn wir die Leser dieser Zeitschrift auf den für sie unentbehrlichen Jahresbericht noch aufmerksam machen wollten. Derselbe befindet sich zweifellos längst in ihren Händen. Ref. benutzt nur, einem in der Vorrede zum 4. Bande geäußerten Wunsche entsprechend, die Gelegenheit, auch noch an dieser Stelle darauf hinzuweisen, daß die Autoren, welche auf dem Gebiete der Gärungsphysiologie thätig sind, im Interesse des pünktlichen Erscheinens und der Vollständigkeit des Jahresberichtes nicht versäumen möchten, dem Herausgeber ihre Arbeiten durch Zusendung von Separaten zugänglich zu machen. Hoffentlich gelingt es dem verdienten Herausgeber auch, im nächsten

1) Der vorstehenden Zusammenstellung liegt nichts ferner, als die Litteratur nach allen Seiten hin erschöpfen zu wollen. Indessen sei noch anmerkungsweise darauf hingewiesen, daß Hansen als der erste den systematischen Begriff *Saccharomyces ellipsoideus* Rees als Sammelspezies erwiesen hat. Von den beiden von ihm nachgewiesenen Formen kann indes nur *S. ellipsoideus* I, der von reifen Traubenbeeren stammt, als Weinhefe für die Weinbereitung in Betracht kommen, da der andere (*S. ellipsoideus* II) aus Bier isoliert wurde. Vergl. u. a. Hansen, *Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques*. (Compt. rend. des travaux du laboratoire de Carlsberg. T. II. 1883. No. 2, sowie: Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. I. München und Leipzig. 3. Aufl. 1895.)



Bande das beabsichtigte Verzeichnis der Adressen der Autoren zusammenzustellen. Möchte dies auch für den einen oder den anderen Leser eine Anregung sein, dem Verf. des Jahresberichtes seine Adresse zu diesem Zwecke zu übermitteln. Behrens (Karlsruhe).

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

- Muir, R. and Ritchie, J., Manual of bacteriology. 8°. 538 p. With 108 illustr.  
London (Pentland) 1897. 12 sh. 6 d.  
de Schweinitz, E. A., The war with the microbes. (Science. 1897. No. 119. p. 561—570.)  
Sternberg, G. M., Practical results of bacteriological researches. (Pop. scienc. monthly. 1896. No. 6. p. 735—750.)  
Woodhead, G. S., The birth and development of bacteriology. (Practitioner. 1897. June. p. 675—682.)

### Untersuchungsmethoden, Instrumente u. s. w.

- Fournier, E., Nouvelle seringue stérilisable. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 10. p. 270—272.)  
Giles, G. M., On a simple method of photomicrography by an inexpensive apparatus. (Journ. of the R. microsc. soc. 1897. April. p. 164—170.)  
Kischensky, D., Ein Verfahren zur schnellen mikroskopischen Untersuchung auf Bakterien in Deckglas- und Objektträgerpräparaten. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 22/23. p. 876—877.)  
Schionnig, H., Matras pour cultures sur blocs de platre. (Annal. de microgr. 1897. No. 5. p. 194—198.)  
Semenowicz, W. u. Marsinowsky, E., Ueber ein besonderes Verfahren zur Färbung der Bakterien im Deckglaspräparate und in Schnitten. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 22/23. p. 874—876.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

- Andreasch, F., Gärungserscheinungen in Gerbbrühen. (Sep.-Abdr. aus „Der Gerber“. 1896/97.) 8°. 107 p. Wien 1897.  
Baruchello, L., Alcune ricerche sui bacteri termofili. (Policlinico. 1897. 15. febr.)  
Bignell, G. C., Some further observations on British oak galls. (Entomol. monthly magaz. 1897. March. p. 54—55.)  
Bourquelot, E., Sur la durée de l'activité des ferments oxydants des champignons en solution dans la glycérine. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 16. p. 454—455.)  
Chatin, J., Sur les noyaux hypodermiques des anguillulides. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 1. p. 57—59.)  
Cookerell, T. D. A., A new coccid from Texas. (Canadian entomol. 1896. No. 3. p. 83.)  
Dastre, A., Analyse de l'action des ferments solubles en général. Application au ferment coagulateur du sang. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 16. p. 469—472.)  
Dejonghe, G., Nouveau procédé de fabrication de la levure pressée. (Alkohol. No. 2. — Bulet. de l'assoc. d. chimistes. — Journ. de la distillerie franç. 1897. No. 672. p. 179—180.)

- Diamare, V.**, Anatomie der Genitalien des Genus *Amabilia* (mibi). (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 22/23. p. 862—872.)
- Effront, J.**, Eine Studie über die Milchsäurehefe. (Alkohol. 1897. No. 18. p. 273—277.)
- Eriksson, J.**, Der günstige Einfluß niedriger Temperaturen auf die Entwicklung von Pilzsporen. (Kgl. Landt. Akad. handl. Tidskr. [1895]. p. 216—223.) [Schwedisch.]
- Fernbach, A.**, Une révolution dans nos connaissances sur la fermentation alcoolique. (Journ. de la distillerie franç. 1897. No. 672. p. 177.)
- Gérard, E.**, Sur une lipase végétale extraite du *Penicillium glaucum*. (Journ. de pharm. et de chim. 1897. No. 11. p. 529—530.)
- Höft, H.**, Studien über die Milchsäuregärung. (Milch-Ztg. 1897. No. 14, 24. p. 211—212, 374—375.)
- Houghton, E. M.**, The nature and manufacture of bacteria products. (Bulet. pharm. 1896. No. 6. p. 248—253.)
- Jacobi, A.**, *Amabilia* und *Diploposthe*. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 22/23. p. 873—874.)
- Labbé, A.**, A propos de la découverte d'un prétendu stade flagellé chez les coccidies. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 21. p. 569—570.)
- Léger, L.**, Le cycle évolutif des coccidies chez les arthropodes. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 18. p. 966—969.)
- McAlpine, D. and Rodway, L.**, Australian fungi. (Agl. Gaz. N. S. Wales. 1896. No. 2. p. 84—87.)
- Michel, A.**, Recherches sur la régénération chez les annélides. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 13, 14. p. 336—338, 353—355.)
- Mrazek, A.**, Zur Entwicklungsgeschichte einiger Tännien. (Aus: Sitzungsber. d. k. böhm. Gesellsch. d. Wiss.) gr. 8°. 16 p. m. 1 Taf. In Komm. Prag (Rivnac) 1897. 0,60 M.
- Müller, H.**, Erfahrungen bei Züchtung von Heferassen für bestimmte Zwecke. (Weinlaube. 1897. No. 16. p. 186—188.)
- Newstead, E.**, Observations on coccidae. XIV. (Entom. monthly magaz. 1896. No. 75. p. 57—60.)
- Oudemans, C. A. J. A.**, Révision des champignons tant supérieurs qu'inférieurs trouvés jusqu'à ce jour dans les Pays-Bas. II. Verhand. d. Koninkl. Akad. v. wetensch. te Amsterdam. 2. sectie. 2. deel. Phycomycètes, Pyrénomycètes. 4°. XVI, 491 p. Amsterdam (Joh. Müller) 1897.
- Rassegna crittogamica** pei mesi di luglio a novembre 1896. Relazione del Direttore del R. Laboratorio di botanica crittogamica in Pavia, prof. G. Briosi. (Bollett. di notiz. agrar. 1897. No. 5. p. 162—173.)
- Renault, B.**, Les bactériacées et les bogheads à Pilas. (Extr. du Bulet. du Muséum d'histoire natur.) 8°. 7 p. Paris (Impr. nationale) 1897.
- Schlossing, Th.**, Sur les fermentations en milieux composés de particules solides. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 1. p. 40—43.)
- Simond, F. L.**, Recherches sur les formes de reproduction asporulée dans le genre *Coccidium*. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 15. p. 425—428.)
- Ubeda, J.**, Eine systematische Studie über die organischen Basen tierischen Ursprungs (Ptomaine, Leukomaine etc.) (Memor. Real Acad. cienc. Madrid [1895]. p. 290.) [Spanisch.]
- Zoja, L.**, Untersuchungen über die Zersetzung des Elastin durch anaërobe Mikroorganismen. (Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXIII. 1897. Heft 3. p. 236—243.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft und Wasser.

- Dittrich, M.**, Das Wasser der Heidelberger Wasserleitung in chemisch-geologischer und bakteriologischer Beziehung. [Habilitationsschrift.] (Aus: Verhandlgn. des naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg.) gr. 8°. III, 58 p. m. 2 Taf. Heidelberg (Carl Winter's Univ.-Buchh.) 1897. 1,60 M.
- Flügge, O.**, Ueber Luftinfektion. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XXV. 1897. Heft 1. p. 179—224.)
- Hesse, F.**, Ueber die Verwendung von Nähragar-Agar zu Wasseruntersuchungen. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXI. 1897. No. 24/25. p. 932—937.)

**Jelliffe, S. E. and Vogel, K. M.**, A report upon some microscopical organisms found in the New York city water supply. (New York med. Journ. 1897. No. 22. p. 722—727.)

**Schumburg**, Zusatzbemerkungen zu meinem „Verfahren zur Herstellung keimfreien Trinkwassers“. (Dtsche med. Wchschr. 1897. No. 25. p. 407.)

—, Ein neuer Apparat zur Versendung von Wasserproben behufs bakteriologischer Untersuchung. (Dtsche med. Wchschr. 1897. No. 29. p. 471.)

### Boden.

**Branner, J. C.**, Bacteria and the decomposition of rocks. (Amer. Journ. of science. 1897. No. 153. p. 438—442.)

**Richards, E. H. and Rolfs, G. W.**, Reduction of nitrates by bacteria and consequent loss of nitrogen. (Tech. quart. 1896. No. 1. p. 40—59.)

### Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

#### Fleisch.

**Edelmann**, Schlachtvieh- und Fleischbeschau. Verwaltungsbericht des Rates der Kgl. Haupt- u. Residenzstadt Dresden auf das Jahr 1895. 4<sup>o</sup>. 10 p.

**Proposition de loi relative aux abattoirs et à la création d'une taxe de visite et de poinçonnage des viandes.** Rapport de la commission et discussion du rapport de M. Teyssandier. 8<sup>o</sup>. 12 p. Angers 1897.

#### Milch, Molkerei.

**de Freudenreich, E.**, Des agents microbiens de la maturation du fromage. (Annal. de microgr. 1897. No. 5. p. 185—193.)

**Griffith, J. P. C.**, The pasteurisation of milk. (Therapeut. Gaz. 1897. No. 5. p. 298—300.)

**Obermüller, K.**, Ueber Tuberkelbacillenbefunde in der Marktbutter. [Vorl. Mitteil.] (Hygien. Rundschau. 1897. No. 14. p. 713—714.)

#### Bier, Brauerei.

**Reichard, A. u. Biehl, A.**, Versuche über Einwirkung der Hefegabe auf das Bier. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1897. No. 1, 2, 3. p. 8—11, 27—30, 43—45.)

#### Wein, Weinbereitung.

**Desmoulins, A. M.**, La casse des vins. (Moniteur vinicole. 1897. No. 28. p. 109—110.)

**Martinand, V.**, L'oxydation et la casse des vins. (Moniteur vinicole. 1897. No. 24. p. 94.)

**Perraud, J.**, Sur la casse des vins. (Rev. de viticult. 1897. No. 172. p. 371—373.)

**v. Thuemen, W.**, Vom Weine. VIII. Die wichtigsten Krankheiten und Fehler der Weine. (Prometheus. 1897. Heft 7. p. 388—392.)

### Andere Nahrungs- und Genußmittel.

**Husemann, Th.**, Vergiftung und Bacillenübertragung durch Austern und deren medizinisch-polizeiliche Bedeutung. (Wien. med. Blätter. 1897. No. 24—28. p. 399—401, 415—417, 431—434, 448—450, 465—468.)

**Schiewek, O.**, Ueber Saké, das Nationalgetränk der Japaner, und die bei seiner Bereitung wirksamen Pilze. (Jahresber. d. evang. Realschule I in Breslau, Ostern 1897.) (Wchschr. f. Brauerei. 1897. No. 27. p. 337—339.)

**Schrank, J.**, Ein Beitrag zur Bakteriologie des Brotes. (Ztschr. d. Allg. österreich. Apotheker-Ver. 1897. No. 14.)

### Wohnungen, Abfallstoffe etc.

**Aronson, H.**, Ueber eine neue Methode zur Desinfektion von größeren Räumen mittels Formalin. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XXV. 1897. Heft 1. p. 168—178.)

**Piton, A.**, Rapport sur la désinfection par le chloroformol des locaux contaminés. (Arch. de méd. navale. 1897. No. 6. p. 414—423.)

**Frédhomme**, De la désinfection des locaux par le formochlorol. (Annal. de la policlin. de Lille. 1897. Févr.)

**Rideal, S.**, The purification of sewage by bacteria. (Journ. of the sanit. institute. 1897. April. p. 59—76.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

### Krankheitsregende Bakterien und Parasiten.

**Bach, C.**, Die Krankheiten der Obstbäume. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Ver. im Großhrzgt. Baden. 1897. p. 84.)

**Bericht** über die Verbreitung der Reblaus (*Phylloxera vastatrix*) in Oesterreich in den Jahren 1894 und 1895. (Weinlaube. 1897. No. 16, 17. p. 181—185, 195—197.)

**Boas, J. E. V.**, Dansk forstzoologi. Hæfte 6. 8°. 32 p. Stockholm (Nordiske forlag) 1897. 65 Oere.

**Carrot fly**, the (*Paila rosae*). (Journ. of the Board of agriculture. London 1897. No. 4. p. 390—392.)

**Casal, J.**, La question des engrais (provenance, préparation, leur emploi judicieux), suivie de la description sommaire des maladies de la vigne (oïdium, anthracnose, mildew, blackrot) et des moyens connus de les combattre. 8°. 32 p. Toulouse (Impr. Marques & Co.) 1897.

**Chester, F. D.**, Experiments on the treatment of peach rot and apple scab. (Delaware stat. bullet. 1897. No. 29. 24 p.)

**Chittenden, F. H.**, The hymenopterous parasite of the Angoumois moth. (Entomol. News. 1896. No. 4. p. 106—107.)

**Cuboni, G.**, La malattia del castagno nell' anno 1896. [Rapporto.] (Bollett. di notiz. agrar. 1897. No. 6. p. 196—215.)

**Dösch**, Die sogenannten verwandten Parzellen in den Reblausgebieten. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 14. p. 111)

**Duby, S. H.**, Spraying to prevent apple and pear scab. (Rural New Yorker. 1896. No. 2411. p. 256.)

**Elenco** generale dei comuni accertati infetti da fillossera o sospetti di esserlo, a tutto il 31 dicembre 1896, dai cui territori è vietato di asportare vegetali, in conformità dei decreti ministeriali in data 6 luglio 1892 e 30 novembre 1895. (Bollett. di notiz. agrar. 1897. No. 4. p. 122—128.)

**Frank**, Ein neuer Rebensschädiger in Rheinhessen. (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Vereine d. Großhrzgt. Hessen. 1897. No. 19. p. 167—168.)

**Göts, F. L.**, Krankheiten, Fehler und Mängel der Weine und ihre Beseitigung. (Landwirtschaftl. Flugschr. 1897. No. 2.) 12°. 46 p. Straßburg (Engelhard) 1897. 0,50 M.

**Hill, E. G.**, Fowler's solution for carnation rust. (Amer. florist. 1896. No. 408. p. 942—943.)

**Istruzioni**, nuove, per combattere le tignuole delle viti. (Bollett. di notiz. agrar. 1897. No. 6. p. 216—219.)

**Kirchner, O. u. Boltschauer, H.**, Atlas der Krankheiten und Beschädigungen der Hülsenfrüchte, Futtergräser und Futterkräuter. 22 in feinstem Farbendr. ausgeführte Taf. m. kurzem erläut. Text. gr. 8°. III, 62 p. Stuttgart (Ulmer) 1897.

In Mappe 12 M.

**Krasiletschik, J.**, Sur les parasites des vers à soie sains et malades. Contribution à l'étude de la flacherie, de la grasserie et de la pébrine. (Mémoire de la soc. zoolog. de France. 1896. part. 5. p. 513—522.)

**Larbalétrier, A.**, Les animaux utiles et nuisibles à l'horticulture (insectes, exceptés). Caractères, mœurs, habitudes, régime, dégâts, utilité, destruction, protection etc. 18°. IV, 160 p. Avec 29 fig. Paris (Doin) 1897.

**Lavergne, G.**, Congrès de black-rot à Bordeaux. 8°. 7 p. Paris (Impr. Levé) 1897.

**López Tuero, F.**, Enfermedad de la caña de azúcar y modo de combatirla. 2. edic. 8°. 51 p. Madrid 1897.

**Marasch, F.**, La science triomphe du phylloxéra. (Vigne franç. 1897. No. 7. p. 106—107.)

**Müller**, Neues über den Weinstockfalkäfer. (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Vereine d. Großhrzgt. Hessen. 1897. No. 16. p. 143.)

- Nessler, J.**, Kupferzuckerkalk zum Bekämpfen der Blattfallkrankheit und Wichtigkeit des frühen und Nachteile des zu starken Spritzens der Reben. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 21. p. 189.)
- —, Der Aescherig (Traubenkrankheit, Mehltau, Oidium). (Ibidem. 1897. No. 24. p. 209.)
- Pammel, L. H. and Carver, G. W.**, Treatment of currants and cherries to prevent spot diseases. (Jowa stat. bullet. 1897. No. 30. p. 289—301.)
- de Rawton, E.**, Le vignoble reconstitué par les cépages français, débarrassés du phylloxéra, du black-rot, du mildew et de l'oïdium. Méthode de culture curative et préservative, comprenant et outre l'analyse physico-chimique de la terre arable, la recherche et le dosage des principes fertilisants dans le sol et dans les engrais par des moyens simples et d'exécution facile. 16°. 168 p. Paris 1897. 1 fr.
- Rose, E.**, Le Pseudocommis vitis Debray dans les tubercules de pommes de terre. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 13. p. 704—705.)
- —, La cause efficiente de la maladie de la pomme de terre appelée la Frisolée. (Ibidem. T. CXXV. 1897. No. 1. p. 59—61.)
- Silvestre, La** lutte contre le black-rot. (Vigne franç. 1897. No. 6. p. 96.)
- Somerville, W.**, Infection experiments with club root of turnips (finger and toe disease). (Journ. Royal Agl. soc. England. 1895. Ser. 3, 6. No. 24. p. 749—759.)
- Stewart, F. C.**, The cucumber flea-beetle as the cause of „Pimply“ potatoes. (New York agricult. exper. stat. Bull. 113. N. ser. 1896. p. 311—317.)
- Stewart, F. C.**, Fowler's solution for carnation rust. (Amer. florist. 1896. No. 408. p. 942.)
- Terasch, J.**, Roncet (eine Rebkrankheit). (Weinlaube. 1897. No. 14. p. 157—158.)
- Theobald, F. V.**, On some hop pests. (Entomol. monthly magas. 1896. No. 75. p. 60—62.)
- Wheeler, H. J. and Tucker, G. M.**, Upon the effect of barnyard manure and various compounds of sodium, calcium and nitrogen upon the development of the potato scab. (Rhode Island Stat. Bull. 1897. No. 33. p. 51—79.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Krönig, B. u. Paul, Th.**, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XXV. 1897. Heft 1. p. 1—112.)
- Scheurlen**, Zur Kenntnis unserer Desinfektionsmethoden. (Münch. med. Wchschr. 1897. No. 29. p. 811—813.)

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.

- Beijerinck, M. W.**, Weitere Beobachtungen über die Octosporushefe. (Orig.), p. 449.
- Jegunow, M.**, Zur mechanischen Analyse der Bakterienplatten. (Orig.), p. 467.
- Russell, H. L. and Weinzirl, John**, The Rise and Fall of Bacteria in Cheddar Cheese. (Orig.), p. 456.
- Smith, Erwin F.**, Pseudomonas campestris (Pammel). The cause of a brown rot in cruciferous plants. (Orig.) [Conclusion], p. 478.

### Zusammenfassende Uebersichten.

- Behrens, J.**, Die Reinhefe in der Weinbereitung. (Orig.) [Schluß], p. 486.

### Referate.

- Koch, Alfred**, Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen, p. 491.

Neue Litteratur, p. 492.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau  
in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. A., Prof.  
Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann  
in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel**

und

**Prof. Dr. J. H. Vogel in Berlin.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 14. Oktober 1897.**

**No. 19/20.**

---

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

---

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

---

## **Original-Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Zum „Butteraroma“.**

Von

**Dr. H. Weigmann.**

Die Ausführungen des Herrn Prof. Conn in der No. 7/8 dieser Zeitschrift. II. Abt. Bd. III, zu welchen derselbe durch die Mittheilungen meiner „Studien über das bei der Rahmreifung entstehende Aroma der Butter“ in der Milchzeitung 1896. No. 50—52 veranlaßt worden ist, verlangen auch meinerseits eine Aufklärung bez. Richtigstellung sowie eine Ergänzung meiner Darlegungen an der genannten Stelle.

Die von mir ausgesprochenen Worte, welche Herrn Prof. Conn zu der erwähnten Notiz Grund geben konnten, sind die folgenden: „Mit anderen Worten, das Aroma der Butter ist nicht das Produkt einer einzelnen Pilz- und Bakterienart, sondern die Summe der aromatischen Produkte aller in der Milch lebenden Mikroorganismen und zwar nicht von selten in Milch zu findenden, besonderen Bakterienarten, sondern von den gewöhnlichen, in fast jeder rein gewonnenen und gut behandelten Milch sich vorfindenden Organismen.“

Diese Ansicht ist vor kurzem auch bereits von Conn ausgesprochen worden, nur will mir scheinen, als ob Conn diese leitende Idee bei seinen Versuchen wieder verlassen hätte.“

Diese beiden Sätze, sowie einige folgende sind, wie Prof. Conn mit Recht annimmt, mit speziellem Bezug auf seine Veröffentlichungen geschrieben.

Herr Prof. Conn meint nun, daß ich ihn mißverstanden hätte und daß er im großen und ganzen dieselben Ansichten früher schon geteilt hätte und noch teile, daß er nur in dem einen Punkte von mir differiere, in dem nämlich, daß er Bakterien gefunden habe, welche das typische Butteraroma erzeugen.

Wenn es sich darum handeln soll, die Unterschiede festzustellen zwischen den Ansichten Conn's über die das Aroma der Butter bedingenden Bakterienarten und meinen Ausführungen über diesen Punkt, so dürfte es zweckmäßig sein, die Hauptsätze, in denen die Ausführungen der beiden Autoren gipfeln, einander gegenüberzustellen. Die Hauptresultate Conn's lassen sich unter Berücksichtigung der zeitlichen Aufeinanderfolge in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Die Wirkung der im reifenden Rahm sich vorfindenden Bakterien auf das Aroma der Butter ist verschieden, die meisten von ihnen geben eine gute Butter, keines von ihnen giebt für sich allein angewendet ein typisches Butteraroma<sup>1)</sup>.

2) Der Bacillus No. 41, welcher nicht zu den Säuerungsbakterien gehört, giebt, in nicht präparierten Rahm eingesät, eine Butter mit starkem typischen Butteraroma<sup>2)</sup>.

3) Die Bildung von Butteraroma ist unabhängig von der Säurebildung im reifenden Rahm<sup>3)</sup>.

4) Der Rahm der gewöhnlichen Meiereien enthält Bakterien, deren Mehrzahl auf Geschmack und Aroma der Butter einen guten Einfluß hat oder für diese Eigenschaften nicht nachteilig ist; sie sind übereinstimmend mit der besten Qualität Butter. Im Monat Mai und Juni nehmen Zahl und Art dieses Bakterientypus zu und verbessern so die Qualität der Butter. Dieser Typus von Bakterien, welche sich im Rahm der gewöhnlichen Meiereien finden und welche das Aroma günstig beeinflussen, sind nach Conn's ausdrücklichen Bemerkungen Bakterien, welche nicht dem Typus der Milchsäure-

1) VI. Annual Report of the Storrs Agr. Exp. Stat. 1893. p. 68.

2) VII. Annual Report etc. 1894. p. 68.

3) VII. Annual Report etc. 1894. p. 91.

oder überhaupt Säurebakterien, sondern dem der eiweißzersetzenden Bakterien angehören.

Dies die Leitsätze Conn's; meine Ausführungen gipfeln in folgenden Sätzen:

1) Das bei der spontanen Rahmsäuerung entstehende Aroma verdankt seinen Ursprung nicht allein den Milchsäurebakterien, sondern hat noch andere Quellen. (Damit ist schon gesagt, daß die Milchsäurebakterien an der Bildung des Aromas teilnehmen.)

2) Das Aroma der Butter ist nicht das Produkt einer einzelnen Pilz- oder Bakterienart, sondern die Summe der aromatischen Produkte aller in der Milch lebenden Mikroorganismen, und zwar nicht von selten in der Milch zu findenden, besonderen Bakterienarten, sondern von den gewöhnlichen, in fast jeder rein gewonnenen und gut behandelten Milch sich vorfindenden Organismen.

Im Beginne dieses Satzes wäre besser gesagt worden: Das Aroma der Butter ist in gewöhnlichen und allermeisten Fällen ... Es hätte also hervorgehoben werden müssen, daß es sich um die in jeder normalen Meierei sich vorfindenden Verhältnisse und nicht um besondere Ausnahmefälle handelt. Aber wenn das auch nicht gesagt ist, so geht es doch aus dem Zusammenhange hervor. Solche Ausnahmefälle, also Fälle, in denen ein besonders starkes Aroma einer einzigen Bakterienart, welche gleichzeitig sämtliche Komponenten des typischen Butteraromas in sich vereinigt, zu verdanken ist, sollen gerne zugestanden werden. Ich bin, ebenso wie Conn, der Ueberzeugung, daß es solche Bakterien giebt, und bin ich auch überzeugt, daß der *Bacillus* Conn No. 41 eine solche Art gewesen ist und inzwischen ihre Eigenschaft verloren hat, denn auch darin stimme ich mit Conn vollständig überein und teile — wie ich in der Milchzeitung bereits gesagt habe — seine Erfahrungen ganz und gar, daß solche Bakterien ihre Eigenschaften leicht verlieren, und daß ihre günstige Wirkung teilweise sogar in das Gegenteil umschlagen kann.

3) Das Aroma der im normalen Betriebe gewonnenen Butter wird von Organismen zweier Kategorien gebildet, deren eine aus Säure und Fruchtester bildenden Organismen und deren andere aus eiweißzersetzenden und dabei wohlriechende und wohlschmeckende Stoffe erzeugenden Organismen besteht.

4) Diese beiden Kategorien, durch eine oder mehrere Arten vertreten, müssen sich in ihrer Wirkung gegenseitig ergänzen und ihre einseitigen Eigenschaften gegenseitig neutralisieren. Es ist also von jeder Kategorie wenigstens eine Art notwendig, um nicht eine einseitige Wirkung zustande kommen zu lassen.

Es handelt sich hier wieder um den gewöhnlichen Fall, und es ist damit nicht ausgeschlossen, daß es Aroma erzeugende Organismen giebt, welche die beiden Kategorien vertreten und beide Komponenten des typischen Butteraromas in sich vereinigen.

5) Diese das Butteraroma erzeugenden Organismen dürfen in ihrer Gesamtsumme ein gewisses Mengenverhältnis gegenüber den Milchsäurebakterien nicht überschreiten, weil ihre Nebeneigenschaften (Nebenwirkungen auf die Bestandteile der Milch) zu sehr zum Aus-



druck kommen und fehlerhafte Erscheinungen, Butterfehler, hervorrufen.

Aus dieser Gegenüberstellung der Hauptresultate scheint hervorzugehen, daß meine Anschauungen in Punkt 1 und 2 sich decken mit denen Conn's in Punkt 3 bezüglich 1 resp. 4.

Die Uebereinstimmung ist aber in beiden Punkten keine volle bzw. keine ganz klare und erwiesene.

Zunächst stimme ich mit Conn darin nicht überein, daß die Milchsäurebakterien gar keinen Anteil an der Bildung des Aromas haben sollen. Die Rahmreifung ist in der Hauptsache eine Milchsäuregärung und die Milchsäurebakterien sind an Zahl die weitaus überwiegenden Organismen des Rahmes. Ist das nicht der Fall, dann kommt eben eine richtige normale Rahmreifung nicht zustande und das Produkt ist ein fehlerhaftes. Bei diesem Ueberwiegen der Milchsäurebakterien ist es nicht gleichgiltig, welcher Art der Geschmack und der Geruch ist, den sie in Milch bzw. Rahm hervorrufen. Daß ihre Wirkung auf das Aroma der durch sie in Reinkultur gewonnenen Butter verschieden ist, ist bekannt; es ist in den allermeisten Fällen, bei den typischen Milchsäurebakterien nur zu gering, zu schwach und zu einseitig, um als typisches Butteraroma gelten zu können.

Ferner will mir scheinen, als ob bezüglich des Punktes 2 (Weigmann) eine völlige Uebereinstimmung nicht herrscht, richtiger gesagt, als ob Conn bei der Abfassung seiner Arbeiten sich der Notwendigkeit des gleichzeitigen Vorhandenseins mehrerer sogenannter Aromabildner bei der Rahmreifung der normalen Betriebe nicht völlig bewußt gewesen wäre.

Die umfangreichen und hochinteressanten Versuche Conn's hatten, wie aus den Veröffentlichungen hervorgeht, zunächst wenigstens, den hauptsächlichsten Zweck, Bakterien zu finden, welche eine ausgesprochene Wirkung auf das Aroma der Butter ausüben.

In dem „Sixth Annual Report Storrs's Agric. Exp. Station 1893“ sagt Conn p. 44:

The first object of the experiments was to find certain species of bacteria whose use in the ripening of cream would produce a marked effect upon the aroma of the butter. It was desired to obtain one or more species whose agency would produce a pleasantly flavored butter, and one or more whose agency, under identical conditions, would produce an unpleasantly flavored butter. For this purpose, I have experimented with a large number of species of bacteria.

Und am Schlusse derselben Abhandlung giebt Conn als Resultat seiner Untersuchung an, daß:

Most species of bacteria found in cream of a good creamery produce good butter. The number which injure the flavor of the butter is small.

No one species of those experimented with, when used alone for ripening cream, produces a typically flavored butter, though many of them produce butter which is excellent in flavor and which was preferred to that of the normal ripening.

Aus der Gegenüberstellung dieser Sätze, sowie aus dem Zusammenhange der ganzen Abhandlung und der im Jahre 1894 folgenden Abhandlungen geht das Bestreben hervor, diejenigen Bakterien kennen zu lernen, welche für sich allein angewendet, ein Butteraroma erzeugen.

Der Erfolg dieses Bestrebens war denn auch die Auffindung des *Bacillus* No. 41, welchem das typische Butteraroma nach den Versuchen Conn's zukommt.

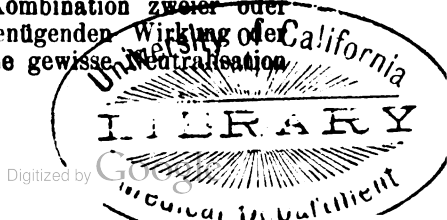
Aus einzelnen Stellen der Abhandlungen Conn's muß man allerdings entnehmen, daß Conn für das Zustandekommen des Aromas der normalen Betriebe, d. h. in den gewöhnlichen Fällen, eine Erklärung gesucht hat. So sagt er im 6. Bericht 1893, *Bacteria in the dairy* V:

Somewhat akin to the above is the general observation that no single species produced a typical ripening of cream, or the usually expected flavor in the butter. Although many of them produced excellent butter, yet in every case the verdict would be given that the flavor was not exactly that of normally ripened butter. This is not to be wondered at, for it is hardly to be expected that any one species would produce the same result, as that produced by many species crowing together. Experiments with combinations of species have therefore been undertaken, but the results are not yet complete.

Und ferner sagt Conn in seiner letzten Abhandlung über Experiments in cream ripening; flavor, aroma, acid als ersten Schlußsatz Folgendes:

The cream in ordinary creameries or in ordinary dairies always contains bacteria a large majority of which are perfectly wholesome and which give rise either to good flavors and aromas in the butter, or at least produce no injurious effect upon the cream. They are perfectly consistent with the production of the best quality of butter.

Nach diesem Satz kann man annehmen, daß Conn durch seine Untersuchungen ebenfalls zu der Ueberzeugung gekommen ist, daß bei der gewöhnlichen Gewinnung von Butter guter und bester Qualität solche Bakterien, welche für sich allein ein typisches Butteraroma zu erzeugen imstande sind, nicht thätig sind, sondern daß gewöhnliche, in Milch, Rahm u. s. w. leicht aufzufindende Bakterien die Ursache des Aromas sind. Es ist aber nicht als besondere Schlußfolgerung gesagt, daß zu der Hervorrufung eines solchen Aromas nicht nur eine Bakterie, sondern mehrere Bakterien verschiedenen Charakters notwendig sind. Es ist allerdings an der einen obenerwähnten Stelle zur Erklärung dafür, daß eine Bakterienart, obwohl aus Butter bester Qualität gewonnen, für sich allein solche nicht wieder erzeugt, gesagt, daß man schwerlich erwarten könne, daß eine Species dasselbe Resultat hervorrufen würde, als einige Species. Auch sollten Untersuchungen mit Kombinationen von solchen Species unternommen sein. Es sind aber weder Mitteilungen über solche Versuche gemacht worden, noch ist etwas Näheres über die Art des gemeinsamen Wirkens der Milchbakterien gesagt, und es bleibt vor allem offen, ob Conn sich dieses Zusammenwirken so denkt, daß durch die Kombination zweier oder mehrerer Species eine Steigerung der ungenügenden Wirkung der einzelnen Bakterien- oder Pilzarten durch eine gewisse Neutralisation



stattfindet, durch welche sie ihre einseitige Wirkung zu dem Gesamtprodukt ergänzen, das wir Butteraroma nennen. Ferner ist allerdings gesagt, daß in den Monaten Mai und Juni der Rahm mehr verschiedene Arten enthalte als in den Wintermonaten; es ist aber auch gleich die Erklärung dafür in der Vermutung gegeben, daß das Gras in diesen Monaten eben einige Bakterienarten enthalten werde, welche das eigenartige Butteraroma erzeugen.

Kurz: klar und bündig ist die in Punkt 2 von mir ausgesprochene Anschauung von Conn nicht ausgedrückt, es scheint vielmehr, daß Conn bei den für das Aroma günstigeren Bakterien eine Verschiedenheit in quantitativem Sinne annimmt und ein geringeres Aroma mit dem Vorhandensein wenig ausgesprochener Aromabildner und ein kräftiges Aroma mit dem Vorhandensein eines kräftigen Aromabildners verbindet, mit anderen Worten: Die Kraft des Aromas der Butter von dem Mangel bezw. dem Vorhandensein einer minder oder mehr kräftigen Aroma erzeugenden Bakterie abhängig macht.

Auch ist anzunehmen, daß Conn, falls er die obige Anschauung hegte, eine diesbezügliche Bemerkung nicht unterlassen hätte.

Bezüglich der anderen beiden oben erwähnten Hauptresultate meiner Untersuchungen, welche einzig und allein die Folge dieses ersten Hauptsatzes sind, findet sich in den Veröffentlichungen Conn's nichts, und es besteht somit ein nicht unwesentlicher Unterschied der Meinungen zwischen mir und Conn in Bezug auf das Zustandekommen des Butteraromas.

Nur nach einer Seite ließe sich aus den oben angezogenen Stellen der Conn'schen Ausführungen — welche, nebenbei gesagt, die einzigen sind in den sämtlichen Veröffentlichungen Conn's — eine Uebereinstimmung mit meinen Ansichten herleiten, nach der Seite nämlich, daß unter gewöhnlichen Verhältnissen im normalen Betriebe das Butteraroma nicht besonderen, verhältnismäßig selten auftretenden Bakterienarten zu verdanken ist. Aber auch diese Uebereinstimmung läßt sich nur, wie oben geschehen, unter Heranziehung aus dem Zusammenhange herausgenommener Sätze konstatieren, denn wie gesagt, geht die Tendenz der sämtlichen Versuche und Mitteilungen Conn's doch dahin, eine oder mehrere Bakterien nachzuweisen, welche für sich allein das typische Butteraroma erzeugen.

Professor Conn sagt dann am Schlusse seiner Notiz, daß eine Verbesserung der Qualität an sich schon feiner Butter durch die von mir als Aromabildner bezeichneten Bakterien wohl kaum eintreten dürfte, daß dies aber wohl der Fall sei bei den von ihm gefundenen Aromabildnern. Demgegenüber gestatte mir darauf hinzuweisen, daß dies mein Bestreben nicht gewesen ist und zunächst das Bestreben auch im allgemeinen nicht sein dürfte. Es handelt sich m. E. vor allem darum, aufzufinden, auf welche Weise das Aroma der Butter allgemein zustande kommt, um die Frage: sind hierzu unter allen Umständen besondere Bakterien notwendig, welche für sich ein besonderes kräftiges, typisches Aroma erzeugen, oder wird dasselbe auch durch die allgemein in der Milch, im Rahm und in der Butter vorhandenen Pilze mit einer mehr einseitigen

Wirkung erzeugt. Wie aus dem Angeführten angenommen werden dürfte, scheint Conn diese Frage dahin beantworten zu wollen, daß das Aroma nur auf dem erstgenannten Wege zustande kommt, oder daß wenigstens ein kräftiger hervortretendes Aroma nur auf diesem Wege zu erreichen ist. Meine Ansicht geht dagegen dahin, daß solche spezifische Aromabildner nur in Ausnahmefällen zu finden sein werden, und daß die Aromabildung in allen normalen Fällen auf die von mir oben angegebene Weise stattfindet. Ob durch dieses Zusammenarbeiten der einzelnen Milchbakterien, welche man ja auch als Aromabildner bezeichnen kann, weil sie eben zum Aroma beitragen, ein besonders stark ausgeprägtes Aroma zustande kommt oder nicht, das ist eine Frage, welche ich zunächst nicht beantworten wollte, auf die es mir jetzt noch nicht ankam. Daraus, daß ich nur die allgemeinen Fälle in Betracht gezogen habe, geht auch schon hervor, daß es nicht mein Bestreben war, Aromabildner im Sinne Conn's aufzufinden, sondern daß ich mich begnüge, die Entstehung des Butteraromas im allgemeinen einer Aufklärung zuzuführen. Von Aromabildnern in meinem Sinne ist dann auch nicht zu erwarten, daß sie eine an sich schon feine Qualität der Butter noch verbessern sollen, denn diese feine Qualität ist, abgesehen von den anderen dabei in Betracht kommenden Faktoren, bereits das Werk der in der Milch enthaltenen Pilze. Daß es Pilze giebt, welche dann noch ein vermehrtes Aroma zu wecken vermögen, bezweifle ich keineswegs, und ich erkenne an, daß dies ein weiterer Fortschritt ist, ein Fortschritt allerdings, dem die Schattenseite anhängt, daß solche Pilze ihre spezifische Wirkung zu leicht verlieren und dann sehr schwer zu ersetzen sind. Entschieden wichtiger als das Suchen nach spezifischen Aromabildnern, auch mit Bezug auf die Technik des Molkereigewerbes, scheint mir aber doch die Erörterung der Frage nach der Bildung des Butteraromas durch die gewöhnlichen Milchbakterien zu sein, denn sie allein scheint mir dazu zu führen, was wir vom wissenschaftlichen Standpunkte aus erreichen wollten: zur vollen Erkennung der Faktoren desjenigen Gärungsvorganges, den wir Rahmreifung nennen.

Auch von anderer Seite (Milchzeitung. 1897. No. 33) scheint eine solche Verbesserung an sich schon feiner Butter nicht nur durch Mischkulturen — Mischung von Reinkulturen von Milchsäurebakterien und von Aromabildnern — sondern sogar von Reinkulturen von Milchsäurebakterien allein erwartet zu werden.

Demgegenüber muß gesagt werden, daß, wenn richtig gearbeitet wird, allerdings feine und hochfeine Qualitäten auch mit den Reinkulturen von Milchsäurebakterien erzielt werden, wie es ja die jahrelangen Erfahrungen in Dänemark und auch in Schleswig-Holstein zu einer Evidenz beweisen, der gegenüber alle weiteren Versuche überflüssig sind. Diese jahrelangen Erfahrungen haben aber auch gezeigt, daß die so hergestellte Butter weniger kräftig ist im Aroma, und dieser Mangel an Aroma ist es auch bisher gewesen, der die allgemeinere Einführung des neuen Verfahrens zum Schaden unseres heimischen Molkereiwesens verhindert hat — man scheut das kleinere Uebel und läßt dafür das große Uebel passieren.

Wenn es nun richtig ist, daß die die Milchsäurebakterien begleitenden übrigen Milchwohner zum Teil zum Aroma der Butter beitragen, so liegt es doch nahe, daß man eine Auswahl solcher, mit Ausschluß der schädlichen Organismen, dem Rahm — nach Entfernung aller Pilze durch die Pasteurisierung — wieder zusetzen muß, um das übliche kräftigere Aroma wiederzuerhalten. Diesem Zwecke dienen die von mir vorgeschlagenen Mischkulturen, und durch sie soll der bisherige Mangel des Aromas an der Reinkulturenbutter nach Möglichkeit beseitigt werden. Mit Bezug auf die Ausführungen in der Milchzeitung No. 33 muß aber gesagt werden, daß es nunmehr, nachdem die Einführung der Reinkulturen während mehrerer Jahre und — speziell in Dänemark — in einem so außerordentlichen Umfange sich auf das Beste bewährt hat, ein vergebliches Bemühen ist, noch eine Lanze gegen dieselbe brechen zu wollen.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage über die Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch - agronomischen Station bei der Kaiserl. russischen Acclimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von

**S. A. Sewerin**

in

**Moskau.**

Mit 16 Figuren.

Ich habe nicht die Absicht, hier Angaben über das in dieser Frage existierende litterarische Material zu liefern, da eine kurze Uebersicht über dasselbe schon Stutzer und Burri zusammengestellt haben in ihrer höchst interessanten Arbeit „Ueber nitratzerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust“, abgedruckt in dieser Zeitschrift, Jahrg. 1895. Ich erlaube mir bloß daran zu erinnern, daß nach dem Erscheinen der angeführten Arbeit von Stutzer und Burri in derselben Zeitschrift noch drei Arbeiten erschienen sind, welche die Frage über Denitrifikation behandeln. Die erste, von A. Stutzer und K. Maul, stellt in gewisser Beziehung eine Fortsetzung der Arbeit von Stutzer und Burri dar, die anderen zwei von J. Schirokisch, Ampola und Garino handeln über zwei neue Mikroorganismen, die salpetersaure Salze zu zersetzen imstande sind. Außerdem verdienen aus neueren Arbeiten angeführt zu werden ein Artikel von E. Marchal, der schon im Jahre 1893 erschien, und über Mikroorganismen des Bodens, welche  $\text{NH}_3$  produzieren, handelt. Aus dieser Arbeit erfahren wir, daß *Bac. mycoides* (Flügge) ebenfalls die Eigenschaft besitzt, salpetersaure

Salze zu zerlegen, wobei die Reduktion einschließlich bis zu  $\text{NH}_3$  geführt wird; ein ausführliches Referat über diese Arbeit findet sich ebenfalls in dieser Zeitschrift von 1895. Endlich erschien in demselben Jahre eine Arbeit von M. Egunow, betitelt: „Le dénitrificateur aérobie durant la germination des grains“<sup>1)</sup>. M. Egunow, die Versuche Bréal's<sup>2)</sup> wiederholend, hat von der Oberfläche einiger Samen einen aeroben Mikroorganismus in Gestalt eines Stäbchens isoliert, zum größten Teile aus zwei Gliedern bestehend, mit aktiver Bewegung, die Gelatine verflüssigend und mit der Fähigkeit begabt, salpetersaure Salze zu reduzieren. Im Kolben mit flachem Boden, in mineralischem Nährsubstrate mit salpetersaurem Salze, in einige Millimeter dicker Schicht, wird die Zersetzung des Nitrates durch Auftreten von  $\text{NH}_3$  begleitet; bei einer Dicke der Flüssigkeitsschicht von mehr als 1 cm erscheint freier N; bei einer Dicke der Flüssigkeitsschicht von 6—7 cm findet augenscheinlich gar keine Bildung von  $\text{NH}_3$  statt, und das Nitrat wird direkt bis zu freiem N reduziert; dasselbe beobachtet man bei Abschluß von Luft. Als Zwischenstufe erscheint salpetrige Säure.

Um meinerseits an der Bearbeitung dieser Frage teilzunehmen, unterwarf ich alle die Reinkulturen, die von mir aus Pferdemist isoliert worden waren, einer Prüfung auf ihre Denitrifikationsfähigkeit. Es sind von mir bis jetzt im ganzen 32 Reinkulturen isoliert worden; einige derselben wurden schon früher in meinen zwei Arbeiten<sup>3)</sup> beschrieben. Es wurden im ganzen 29 Kulturen einer Prüfung unterworfen, unter denselben waren 3 strenge Anaeroben, 1 fakultativer Anaerob und 25 strenge Aeroben. Die übrigen 3 Kulturen, von welchen 2 Anaeroben und die dritte *B. tetani*, wurden nicht untersucht, da dieselben, aus verschiedenen Ursachen, zu Grunde gegangen waren. Als Nährsubstrat diente Fleischpeptonbouillon mit 0,3 Proz.  $\text{NaNO}_3$ . Die Kulturen wurden bei 30° gehalten und in Matras nach Pasteur untergebracht, von denen jede 20 ccm Bouillon enthielt. Die ersten Kulturen wurden gruppenweise eingepft, d. h. zu 3—4 Arten zusammen in einem Kölbchen, die 3 anaeroben Arten wurden jede besonders in Pasteur'schen Röhrchen zu anaeroben Kulturen in einer Wasserstoffatmosphäre untergebracht. Alle Kulturen (7 Kölbchen und 3 anaerobe Röhrchen) wurden auf 10 Tage in den Thermostaten gestellt. Im Laufe dieser Zeit zeigte sich nur in einem der Kölbchen reichlicher Schaum, in allen übrigen dagegen wurde keine Schaumbildung beobachtet. Es war augenscheinlich, daß das Kölbchen, in welchem die Schaumbildung stattgefunden hatte, mir als deutlicher Beweis der Wahrscheinlichkeit eines in ihm stattgefundenen tiefen Denitrifikationsprozesses dienen konnte. Nach Verlauf von 10 Tagen wurde in 5 Kölbchen und den 3 anaeroben Röhrchen eine deutliche Reaktion mit Diphenylamin und  $\text{H}_2\text{SO}_4$  erhalten; der Inhalt der 2 letzten Kölbchen gab keine Reaktion. Zu diesen letzteren ge-

1) Mémoires de l'Institut agronomique et forestier à Nowo-Alexandria. Vol. X. 1895. (Russie.)

2) Contribution à l'étude de l'alimentation azotée de végétaux. (Ann. agr. 1898. No. 6.)

3) Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. 1895.

hörte auch das Kölbchen, in welchem die Schaumbildung vor sich gegangen war. Auf diese Art ergab die vorläufige Untersuchung, daß unter meinen Kulturen sich mindestens zwei befinden mußten, mit der Fähigkeit ausgestattet, salpetersaure Salze weiter als bis zu  $\text{HNO}_2$  zu reduzieren.

Nach diesen Voruntersuchungen wurde eine zweite Serie von Versuchen unternommen, und zwar in derselben (0,3 Proz.) Nitrat-Bouillon, bloß daß jetzt in jedes Kölbchen nur eine Reinkultur untergebracht wurde; mit den anaëroben Kulturen wurden die früheren Versuche wiederholt, wobei alle Kulturen wiederum auf 10 Tage in den Thermostaten bei  $30^\circ \text{C}$  gestellt wurden. Im Laufe dieser Zeit wurde nur in einem Kölbchen starke Schaumbildung beobachtet, alle übrigen Kölbchen zeigten das gewöhnliche Aussehen von Bouillonkulturen. Nach Ablauf der festgesetzten 10 Tage wurden mit allen Kulturen qualitative Reaktionen ausgeführt, d. h. sie wurden mit Diphenylamin und  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und mit Jodzinkstärke behandelt. Es ergab sich folgendes: In zwei Kölbchen erhielt ich keine Reaktion mit Diphenylamin und  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 9 Kulturen gaben eine Reaktion mit Jodzinkstärke, 18 Kulturen, und unter diesen auch die anaëroben, gaben deutliche Reaktion mit Diphenylamin und keine Reaktion mit Jodzinkstärke. Wie man daraus ersehen kann, so befanden sich unter meinen Kulturen zwei, die die Fähigkeit besaßen, tiefe Denitrifikationsprozesse hervorzurufen, 9 Kulturen reduzierten augenscheinlich bloß bis zu  $\text{HNO}_2$ , die übrigen 18 erwiesen sich salpetersauren Salzen gegenüber indifferent.

Die nächste Aufgabe war jetzt, zu entscheiden, ob diese 9 Kulturen imstande waren, die Zersetzung weiter als bis zu  $\text{HNO}_2$  zu führen, oder ob dieselbe auf der angeführten Stufe stehen blieb. Um quantitative Bestimmungen einer solchen großen Anzahl von Flüssigkeiten zu vermeiden, wählte ich einen anderen Weg. Ich verminderte nämlich die Menge des zur Bouillon hinzuzugebenden salpetersauren Salzes bis auf 0,1 Proz., in der Voraussetzung, daß, im Falle sich unter den betreffenden Bakterien solche befinden sollten, die die Fähigkeit besitzen, tiefe Denitrifikationsprozesse hervorzurufen, dieselben imstande sein werden, eine solche verhältnismäßig geringe Quantität Nitrat vollständig zu zersetzen. In der That erwies es sich nach Verlauf von 10 Tagen, daß bei zwei Kulturen mit Diphenylamin und  $\text{N}_2\text{SO}_4$  keine Reaktion mehr erfolgte. Dieser Umstand wird nun wahrscheinlich zur quantitativen Erklärung herangezogen werden können, d. h. zur Erklärung der mehr oder weniger bedeutenden Energie, mit welcher irgend ein Mikroorganismus seine denitrifikatorische Thätigkeit äußert. In dieser Voraussetzung verringerte ich den Gehalt an Nitrat in der Bouillon noch weiter, bis auf 0,05 Proz., und es erwies sich dabei, daß unter den 7 Kulturen, die nicht imstande gewesen waren, bei einem Gehalte der Bouillon von 0,1 Proz. Nitrat, das letztere vollständig zu reduzieren, 4 Kulturen waren, welche das Nitrat bei einem Gehalte von 0,05 Proz. ohne Rückstand zersetzten. Weiter wurde die Verdünnung nun nicht mehr herabgesetzt, da die noch gebliebenen 3 Mikroorganismen, welche bei einem Gehalte von 0,05 Proz. Nitrat die Reaktion auf  $\text{HNO}_2$  noch hervor-

zurufen imstande waren, augenscheinlich bloß in schwachem Maße die Fähigkeit besaßen, den gewünschten Denitrifikationsprozeß zustande zu bringen. Ich muß hier übrigens den Vorbehalt machen, daß eine endgiltige Entscheidung der Frage über die denitrifizierende Thätigkeit der letztangeführten 9 Arten selbstverständlich bloß durch eine quantitative Bestimmung herbeigeführt werden kann, da sich hier außerdem noch eine zweite Frage aufdrängt, darin bestehend, ob nicht der ganze Stickstoff der Nitrats zur Bildung von organisch gebundenem Stickstoff verwendet wird. Jedenfalls hat diese letztere Voraussetzung wenig Wahrscheinlichkeit für sich, da außer dem Stickstoffe des Nitrats, welcher sogar bis 0,5 g im Liter in genügender Menge vorhanden ist, noch der Stickstoff der Bouillon zu diesem Zwecke zur Verfügung steht. Des ferneren weist die Bildung von  $\text{HNO}_2$  auf einen hier vor sich gehenden Reduktionsprozeß hin, und zuletzt wäre bei einer derartigen Voraussetzung eine schon mehr als gewöhnlich starke individuelle Verschiedenheit beim Verbrauch von Nitraten durch die verschiedenen Mikroorganismen zuzulassen, wobei die einen die Nitrats vollständig ignorieren, während die anderen dieselben in äußerst verschiedenen Mengen zum Aufbau von organisierten Verbindungen benutzen würden. Aus der Betrachtung des äußeren Ansehens der Kulturen in der Nitratsbouillon ist jedoch von einem derartigen starken Gegensatze nichts zu bemerken, da unter meinen Kulturen sich einige befanden, die sich in Bouillon sehr schwach entwickelten, während die Zersetzung des Nitrats in demselben Maße vor sich ging, wie bei anderen Kulturen, die in Bouillon energisch gediehen. Wie dem nun auch sei, jedenfalls zersetzten aus den 9 untersuchten Kulturen 6 die Nitrats weiter als bis  $\text{HNO}_2$ .

Ich kann mir nicht versagen, hier den Wunsch auszusprechen, daß die so sehr verbreitete Fähigkeit der Bakterien, salpetersaure Salze vollständig oder bis zu  $\text{HNO}_2$  zu reduzieren, von den Forschern nicht vernachlässigt werden möchte als physiologisches Merkmal bei der Beschreibung neuer Arten. Diese Fähigkeit verdient Beachtung schon aus dem Grunde, da jedem bakteriologisch Arbeitenden zur Genüge bekannt ist, wie unbedeutend und unbestimmt die systematischen Kennzeichen sind, welche dem Forscher bei der Beschreibung einer neuen Art zur Verfügung stehen. Alle diese Kennzeichen — oder zum allergrößten Teile wenigstens — bestehen in der Beschreibung der äußeren Form und des Ansehens der Kultur auf verschiedenen Nährsubstraten, d. h. es sind Merkmale, die im höchsten Grade Veränderungen unterworfen sind. Wenn wir hier noch hinzufügen, daß dabei die äußere Form der Kultur in dem Nährsubstrate gewöhnlich bloß in wenigen Worten beschrieben wird, so wird die volle Unmöglichkeit klar werden, die gesuchte Art unter tausend anderen schon beschriebenen Arten herauszufinden und genau zu kennzeichnen. Hierin findet sich, wie es scheint, die Veranlassung dazu, zum Zwecke einer erfolgreichen Systematisierung der Bakterien, sich mit möglichster Vollständigkeit aller zur Verfügung stehenden Kennzeichen und Merkmale zu bedienen, da bloß die Gesamtheit aller Merkmale zusammen genommen uns in gewissem Maße eine Vorstellung von der zu beschreibenden Art geben kann, und es ist ohne Zweifel, daß ein



Merkmal, wie das Verhältniß der Bakterien zu salpetersauren Salzen, infolge der Häufigkeit desselben, zu den wichtigsten dieser Art gezählt werden muß, um so mehr, da die Bestimmung der denitrifizierenden Fähigkeit der Bakterien, wie die Bestimmung überhaupt aller, sich zur Zeit in unseren Händen befindlichen Merkmale, in der größten Mehrzahl der Fälle höchst einfach ist.

Im Weiteren will ich jetzt zur Beschreibung der Reinkulturen meiner denitrifizierenden Arten übergehen, wobei bloß diejenigen genauer besprochen werden sollen, welche die salpetersauren Salze am energischsten zu zersetzen imstande sind. Von den 7 Arten, die im Laufe von 10 Tagen alles Nitrat bei 0,1 Proz. Gehalt desselben in Bouillon zu zerlegen nicht fähig waren, gehören 4 Arten zu Mikro-bakterien, 1 Art ist unzweifelhafte Stäbchenbakterie, 1 Art gehört zur Kokkenform und endlich die siebende Art war der allgemein bekannte *Bac. indicus*. Von den zwei Kulturen, die im Laufe von 10 Tagen 0,1 Proz. Nitrat in Bouillon zersetzten, ist die eine schon früher in meiner Arbeit<sup>1)</sup> unter No. 4 beschrieben worden; die Beschreibung des anderen Mikroorganismus will ich hier vollständig anführen und denselben in der Reihe der früheren von mir beschriebenen Arten mit No. 6 bezeichnen.

#### No. 6.

Form der Kolonien auf Agar nach 24 Stunden bei 37—38° C. Die in der Tiefe liegenden Kolonien sind oval oder schiffchenförmig, braun, ihre Oberfläche mit feinen Wimperchen besetzt; die Umriss sind vollkommen glatt, scharf, dunkel; bei der Mehrzahl der Kolonien beobachtet man an irgend einer beliebigen Stelle der Peripherie einen kleinen Vorsprung in Form eines kleinen, höckerförmigen Auswuchses. Die Kolonien auf der Oberfläche des Nährsubstrates haben verschiedenartige Umriss; sie sind fast schwarz, so daß auf der Oberfläche fast nichts zu unterscheiden ist, bloß an einzelnen Stellen beobachtet man hellere Streifen; bei einzelnen Kolonien, die heller gefärbt sind, sieht man deutlich die grobkörnige Struktur; die Umriss sind unregelmäßig fein ausgezackt, aus manchen Kolonien verlaufen nach allen Seiten breite, verzweigte Bänder, von derselben Struktur, wie der mittlere Teil der Kolonie. Makroskopisch zeigen die Kolonien verschiedene Grade von Rundung, sie sind weiß, vollständig flach, trocken, ohne jeden Glanz, grobrunzelig; aus der Mehrzahl derselben entspringen Auswüchse wie von fächerförmiger Gestalt.

Form der Kolonien auf Gelatine nach 2 Tagen: Alle Kolonien befinden sich im Zustande der Verflüssigung; die allerkleinsten, jüngsten Kolonien sind rund, braun, ihre Oberfläche ist deutlich granuliert, die Umriss sind glatt, scharf, dunkel; allmählich beginnen aus solchen Kolonien sehr zarte Wimperchen hervorzutreten, welche, indem sie sich mehr und mehr vergrößern, einen hellen, grauen, konzentrischen Ring um einen braunen Kern bilden; je weiter nun die Entwicklung fortschreitet und mit derselben die Verflüssigung,

1) Die im Miste vorkommenden Bakterien etc. (Diese Zeitschrift. II, Abt. 1895. p. 805.)

wird der braune Kern immer kleiner und heller, und der graue Ring erweitert sich mehr und mehr. Makroskopisch haben die Kolonien die Form von runden, trüben Vertiefungen.

Strich auf Agar nach 24 Stunden bei 37° C: Weiß, trocken, dünn, breit, mit starken Runzeln bedeckt, die die Form von ziemlich symmetrischen Mustern haben.

Stich in Gelatine nach 2 Tagen: An der Einstichstelle eine trübe Vertiefung, unter derselben wie in einem Schälchen eine trübe Flüssigkeit, von welcher in kaum bemerkbaren Streifen die Verflüssigung in die Tiefe geht. Am 3. Tage hat der Stich die Form eines großen, undurchsichtigen Schlauches, an der Oberfläche mit einem dünnen, glatten, weißlichen Häutchen bedeckt; am untersten Ende des Schlauches befindet sich der Niederschlag der weißen, flockigen Kultur; ungefähr nach 6 Tagen ist im vollen Umfange des Schlauches die Gelatine verflüssigt, die verflüssigte Schicht ist ziemlich durchsichtig, am Grunde liegt der weiße, flockige Niederschlag der Kultur.

Impfung in Bouillon nach 24 Stunden bei 37° C. Die Bouillon ist vollkommen klar, mit einem runzligen, trockenen Häutchen bedeckt, die hervorgehobenen Ränder des Häutchens kleben an den Wänden des Gläschens fest. Unter dem Mikroskop sieht man Stäbchen mit abgerundeten Enden und aus einer sehr wechselnden Anzahl von Gliedern bestehend; das ganze Häutchen besteht aus sehr langen Fäden, die mit Endosporen fast angefüllt sind; die Sporen sind oval, ziemlich groß und befinden sich entweder in der Mitte der Gliederchen oder gegen das eine Ende zu; die Dicke der einzelnen Gliederchen erreicht bis zu 1  $\mu$ , die Länge 3—4  $\mu$ ; die Stäbchen besitzen aktive, lebhafte Bewegung.

Hängender Tropfen nach 24 Stunden bei 37° C: Die Stäbchen bestehen zum größten Teil aus 2 Gliederchen, seltener aus 3—5, fast alle sind mit endosporen Bildungen versehen; langgestreckte Fäden werden nicht gebildet.

Strich auf Kartoffel nach 24 Stunden bei 37° C: Ebenso, wie auf Agar, bloß daß die Runzeln noch stärker entwickelt sind (in der Art eines zusammenge rafften Fenstervorhanges).

Milch, welcher der Mikroorganismus beigeimpft war, gerann nach 2 Tagen bei 37° C, aber das ausgeschiedene Kasein hatte nicht das Ansehen einer kompakten Masse, sondern erschien in Form eines feinen, körnigen Niederschlags.

In Bouillon, unter anaëroben Verhältnissen, gedeiht der Mikroorganismus nicht.

Der im Vorhergehenden beschriebene Mikroorganismus ist nach der Mehrzahl der Merkmale augenscheinlich als eine die Gelatine schnell verflüssigende Varietät von *B. subtilis* zu betrachten.

Die Kultur No. 4 erwies sich bei genauerer Untersuchung imstande, ebenfalls mehr als 0,1 Proz.  $\text{NaNO}_3$  in 10tägigen Zeiträumen zu reduzieren, nämlich 0,2 Proz. Bei 0,3 Proz. dagegen gab die Bouillon nach Verlauf der angegebenen Zeit eine starke Reaktion mit Jodzinkstärke. Die Kultur No. 6 reduziert im ganzen nicht mehr als 0,1 Proz.  $\text{NaNO}_3$ , da bei 0,2 Proz. nach 10 Tagen in der Bouillon

eine starke Reaktion mit dem oben genannten Reaktiv hervorgerufen wurde.

Die Entwicklung aller dieser 9 denitrifizierenden Mikroorganismen in der Nitratbouillon unterscheidet sich in nichts von dem Wuchse derselben in gewöhnlicher Bouillon.

Endlich erwies sich unter den zwei Kulturen, die bei der ersten Untersuchung die Eigenschaft zeigten, im Laufe von 10 Tagen 0,3 Proz.  $\text{NaNO}_3$  zu reduzieren, die eine als das allgemein bekannte *B. pyocyaneus*, welcher noch von niemand als denitrifizierende Art beobachtet worden ist und von mir ebenfalls aus Pferdemist isoliert worden war. Die zweite Kultur ist schon in meiner früheren Arbeit als No. 3 beschrieben worden. Diese zwei Mikroorganismen verdienen schon deshalb mehr Aufmerksamkeit, weil sie sich mit sehr energischen denitrifizierenden Eigenschaften begabt erwiesen, außerdem ist No. 3 noch in morphologischer Beziehung von gewissem Interesse. Diese zwei Arten sollen jetzt näher betrachtet werden <sup>1)</sup>.

Wie schon gesagt, ist No. 3 schon früher beschrieben worden, aber, da ich jetzt von neuem mit seinen denitrifizierenden Eigenschaften zu thun hatte, so war ich genötigt, mich mit seiner Entwicklungsgeschichte noch genauer bekannt zu machen. Bei dieser Gelegenheit bekam ich noch einige neue Merkmale zu Gesicht, die früher von mir übersehen worden waren. Infolgedessen erlaube ich mir zu meiner früheren Beschreibung der Kultur No. 3 einige Zusätze in betreff einiger speziellen Merkmale zu machen.

Vor allem habe ich eine Berichtigung in betreff der Entwicklung des Mikroorganismus anzubringen. Meiner früheren Beschreibung nach gehört er zu den Arten, die nicht auf Kartoffeln wachsen, während es sich in der Folge erwies, daß bei der Aussaat auf Kartoffeln er einmal gedieh, während ein anderes Mal dies nicht der Fall war. Da die Kartoffelschnitte jedesmal auf eine und dieselbe Art zubereitet wurden, d. h. die aus den rohen Kartoffelknollen ausgeschnittenen Scheibchen wurden in Probiergläsern untergebracht und darauf im Autoklav während 20 Minuten bei 1 Atmosphäre gekocht, wobei sie auch gleichzeitig sterilisiert wurden, so konnte der Unterschied in der Entwicklungsfähigkeit augenscheinlich bloß von der Kartoffelart abhängig sein, welche Voraussetzung auch durch einen speziellen Versuch bestätigt wurde. Die Kartoffelschnitte zu meinen Versuchen wurden immer aus Knollen zubereitet, die in verschiedenen Handlungen erworben wurden, wobei es sich, wie gesagt, erwies, daß auf einigen Kartoffelsorten der Mikroorganismus gedieh, auf anderen dagegen nicht. Dieses Beispiel bestätigt noch einmal die kaum zu beobachtenden Verschiedenheiten derartiger Merkmale, wie die Entwicklungsfähigkeit und besonders die äußere Form der Kultur auf unseren allgemein gebräuchlichen Nährsubstraten. Infolgedessen erscheint es notwendig, jedes neue Kennzeichen, welches

---

1) Da ich hier mit zwei Kulturen No. 3 und No. 4, die in meinen früheren Arbeiten: „Ueber die im Mist vorkommenden Bakterien etc.“ (d. Zeitschr. Jahrg. 1895), beschrieben sind, zu thun hatte, so will ich bei der Gelegenheit noch bemerken, daß die übrigen dort beschriebenen Mikroorganismen No. 1, No. 2 und No. 5 gegenüber salpetersauren Salzen sich vollständig indifferent verhalten.

uns die Möglichkeit an die Hand giebt, tiefer einzudringen in das Verständnis der physiologischen Prozesse, die bei der Entwicklung der Mikroorganismen stattfinden, besonders zu schätzen. Auf den Kartoffelschnitten, auf welchen die Kultur gedieh, erschien der Strich ziemlich spät, d. h. nach 5—6 Tagen, in Form eines schmalen, flachen, gelbbraunen, trockenen Streifens. Im allgemeinen ist die Entwicklung auf Kartoffeln überhaupt ziemlich dürftig. Unter dem Mikroskop besteht ein derartiger Strich aus kurzen Stäbchen, jedes aus 2—3 Gliederchen zusammengesetzt.

Was den Wuchs in gewöhnlicher Fleischpeptonbouillon betrifft, so habe ich in dem früher Gesagten hier einige kleine Veränderungen anzubringen. Nach 24 Stunden, bei einer Temperatur von 30° C, wird die Bouillon schwach getrübt, nach 2 Tagen ist die Trübung schon bedeutend stärker, im weiteren Verlaufe verstärkt sich dieselbe immer mehr, an der Oberfläche, längs den Wänden des Probierröhrchens, bildet sich zum größten Teil ein schmaler Ring aus einem weißlichen, leicht zerreißen Hautchen. In den ersten Tagen ist der Niederschlag am Boden des Röhrchens sehr unbedeutend, in der Folge vermehrt er sich dagegen bedeutend. Unter dem Mikroskop beobachtet man in 5—6-tägigen Kulturen sehr verschiedenartige Formen, angefangen von Mikrobakterien, Stäbchen, zum größten Teil verschiedenartig gekrümmt in Form von Vibrionen und bis zu langgestreckten Spirillen. Zuweilen begegnet man auch ziemlich starken, geschwollenen kurzen Formen, die an Semmeln erinnern, sehr selten beobachtet man äußerst lange Fäden, die um 2—3 mal das Gesichtsfeld übertreffen. Auch die Dicke der Stäbchen ist sehr verschiedenartig, bei den kurzen Formen ist dieselbe geringer, bei den längeren dagegen bedeutend größer. Unter den besonders langen Formen treffen sich zuweilen Mißgestaltungen, ähnlich wie bei *B. aceti*, so beobachtet man zuweilen, daß der Faden an einem Ende sehr dick ist und beim Uebergang zum anderen Ende allmählich dünner wird. Oder aber die Schwellung befindet sich in der Mitte und wird nach beiden Enden zu allmählich dünner und dünner und dergl. mehr. Ungeachtet dessen befinden sich diese mißgestalteten Formen, ebenso wie die Semmelformen, die dem äußeren Anschein nach nichts mit den Stäbchen gemein haben, in lebhaftester Bewegung. Außerdem ist das Auftreten derselben nicht vom Alter der Kultur abhängig, da mit zunehmendem Alter der Kultur die Anzahl der mißgestalteten Formen nicht größer wird; sogar in 2 Monate alten Kulturen wird dieses nicht beobachtet. Das Protoplasma ist bei der Mehrzahl, besonders bei den gestreckten Formen, deutlich körnig, wobei die Körnigkeit sehr verschiedenartig im Körper der vegetativen Form verteilt erscheint. Bei den kürzeren Stäbchen sind die Körner ziemlich von gleicher Größe, die runden Körnchen erscheinen regelmäßig längs dem ganzen Stäbchen, infolgedessen dasselbe in ungefärbten Präparaten Kettenform erhält; in gefärbten Präparaten erweist sich die Kette einfach als ungleichmäßig gefärbtes Stäbchen. In den verdickten Teilen der langen Formen bilden die Körner ganze Gruppierungen verschiedener Art, Größe und Lichtbrechungsfähigkeit. In gefärbten Präparaten stellen alle diese Verschiedenheiten sich in

Form von unregelmäßig gefärbten Stellen der vegetativen Entwicklungsformen dar. Spuren von arthrosporer Teilung lassen sich ziemlich selten beobachten. Bei den Semmelformen färben sich bloß die Polenden und ein schmaler Streifen in der Mitte; alles übrige bleibt ungefärbt. Die Bewegung der Stäbchen ist äußerst lebhaft und verschiedenartig; bei der aktiven Bewegung windet sich das Stäbchen schlangenartig und dreht sich dabei um seine Längsachse.

Was aber bei der beschriebenen Art am meisten Interesse verdient, das ist ihre augenscheinliche Neigung, Verzweigungen zu bilden. In 1—2-tägigen Bouillonkulturen kann man häufig Stäbchen beobachten, die in sehr verschiedenartiger Vereinigung miteinander verbunden sind, bald zu zwei, bald zu drei, zuweilen noch mehr, bald in Form von T, bald legt sich das eine Stäbchen an ein anderes in Form eines Zweiges an, oder es vereinigen sich zwei derselben mit ihren Enden, u. s. w. In solcher Vereinigung führen sie gemeinschaftliche Bewegungen aus, ganz wie ein einzelnes Individuum, und dabei mit höchst bedeutender Schnelligkeit. Im Ruhestande oder bei aufmerksamer Beobachtung gelingt es nicht schwer, sich von der künstlichen oder zufälligen Vereinigung der Individuen zu überzeugen; in gefärbten Präparaten läßt sich dieses bedeutend schwerer unterscheiden, da die Stäbchen zuweilen sich so fest miteinander vereinigen, daß zwischen denselben nicht der geringste Zwischenraum übrig bleibt und dieselben leicht für ein einzelnes Individuum angenommen werden können. Außer den eben beschriebenen Stäbchen fand ich bei genauerer Durchmusterung meiner Präparate noch einige andere Formen, die ich früher noch nicht beobachtet hatte. So treffen sich in den Präparaten zuweilen äußerst wunderbar geformte Körperchen, z. B. Stäbchen, bei welchen das eine Ende in Form eines Trapezes verdickt ist, oder die in Form von Dreiecken mit ausgebogenen Seiten und zugespitzten Ecken vorkommen. Die Stärke der Krümmungen der Seiten, Art der Zuspitzungen und Größe der Dreiecke variiert ungemein, häufig ist irgend eine Ecke des Dreiecks in einen mehr oder weniger langen, geraden oder gebogenen Faden ausgezogen, in solchem Falle sehen wir ein Stäbchen, an einem Ende gabelförmig geteilt. Zuweilen besitzt ein solches Dreieck zwei Ecken, die in zwei lange, gebogene Hörner ausgezogen sind, während die dritte Ecke in ein kurzes zugespitztes Stäbchen ausläuft. Endlich trifft sich zuweilen noch folgende Form: ein kugelförmig aufgedunsener Körper, aus welchem drei gewundene Auswüchse ausgehen. Doch muß hier bemerkt werden, daß bei allen diesen angeführten Formen die Auswüchse an der Stelle ihrer Vereinigung mit dem verdickten Teile der Bakterien bedeutend umfangreicher sind, als nach den entgegengesetzten Enden zu — das gewöhnlich breite untere Ende des Auswuchses verschmälert sich allmählich nach dem entfernteren Ende zu. Infolge dieses Umstandes kann man mit Bestimmtheit sagen, daß derartige Auswüchse unmittelbar aus dem verdickten Teil der Bakterie entspringen und mit demselben ein organisches Ganzes bilden.

Bedeutend schwieriger erscheint es, eine derartige organische

Zusammengehörigkeit aufzustellen zwischen den Stäbchen, welche, wie ich schon früher bemerkt habe, sich sehr häufig miteinander vereinigen, wobei aber an der Vereinigungsstelle sich keine Verdickung beobachten läßt; ob unter diesen Formen wirklich sich teilende Stäbchen existieren, will ich nicht mit Bestimmtheit behaupten.

Um eine deutlichere Vorstellung von den in Wirklichkeit sich teilenden Formen zu geben, entschloß ich mich, in einer besonderen

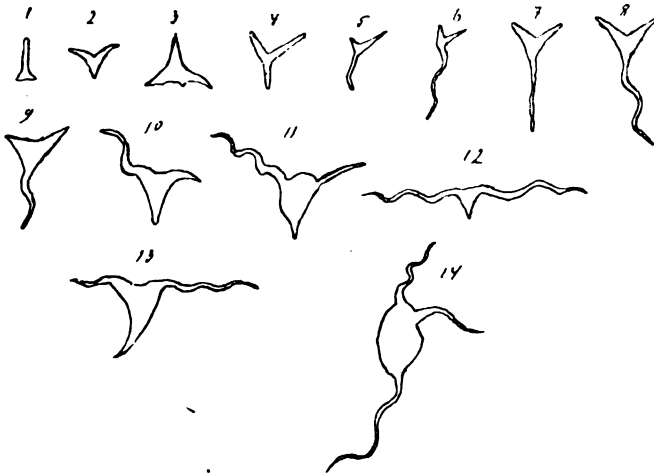


Fig. 1—14.

Beilage Abbildungen der wichtigsten und am häufigsten vorkommenden Formen zu geben und außer diesen noch zwei mikrophotographische Aufnahmen bei einer Vergrößerung bis zu 750 mal beizulegen.

Unter diesen 14 Figuren finden sich viele Variationen, die von dem Umfange und der Größe des ganzen Individuums abhängen, von der Art des verdickten Teils der Bakterie und der Länge der von derselben ausgehenden Auswüchse. Mir scheint es, daß das Auftreten aller dieser Formen durch die deutlich ausgedrückte Neigung, Verzweigungen zu bilden, erklärt werden kann, wobei ein jedes Stäbchen nicht mehr als zwei Auswüchse bildet, und an der Stelle, von welcher aus eine solche Verzweigung stattfindet, das Stäbchen sich stark verdickt. Es kann kaum bezweifelt werden, daß wir es hier nicht mit Involutionsformen zu thun haben, erstens finden sie sich nicht in allen Kulturen, sondern im Gegenteil — bloß in frischen. Schon am 1. Tage treffen sich in der Kultur bloß Fig. 1—4, in den nächsten 4—5 Tagen wird die Anzahl der verästelten Formen größer und gewinnt an Mannigfaltigkeit; im weiteren wird eine Vermehrung der Anzahl von Formen nicht mehr beobachtet und in alten Bouillonkulturen (1 bis 2 Monate) sind sie im allgemeinen eben so minderzählig, wie in frischen. Das Protoplasma dieser Formen unterscheidet sich sehr unbedeutend von dem Protoplasma der unverzweigten Stäbchen, und wenn zuweilen eine Differenzierung beobachtet wird, so ist dieselbe

jedenfalls nicht bedeutender, als wie sie überhaupt bei dieser Art beobachtet wird; ja noch mehr, ihr Protoplasma ist im allgemeinen

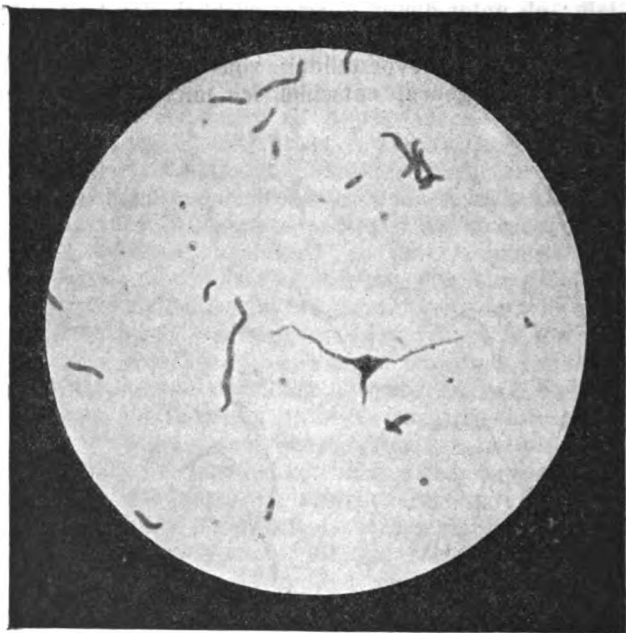


Fig. 15.

bedeutend gleichartiger, besonders an den verdickten Stellen; derartige Formen färben sich sehr gut und weit gleichmäßiger, als die

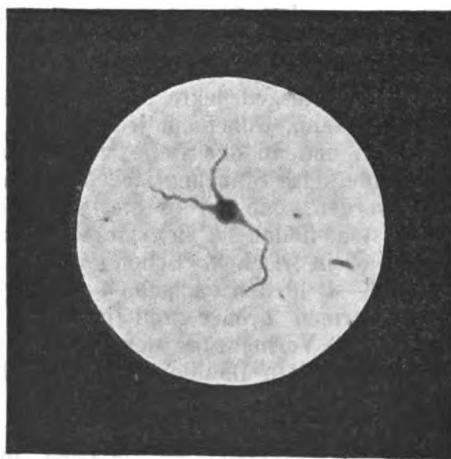


Fig. 16.

Mehrzahl der sich nicht verzweigenden Formen und besonders der Spirillen. Ferner besitzen alle hier abgebildeten Formen die Fähigkeit zur aktiven Bewegung, besonders energisch äußert sich dieselbe bei Fig. 1—4; je länger die Form, um so langsamer ist ihre Bewegung; eine aktive Bewegung beobachtete ich nicht bloß bei Fig. 14. Endlich, wenn man in Betracht zieht, daß bei allen von mir beobachteten Formen man eine gewisse Konsequenz in der Entwicklungsprozesses beobachten

kann, so schließt, alles dieses zusammengenommen, die Möglichkeit einer Voraussetzung aus, daß wir es hier mit Involutionsformen zu thun haben. Was die Reihenfolge bei dem Verzweigungsprozesse betrifft, so muß augenscheinlich als Grundform die Fig. 2 angenommen werden, welche in Form eines kleinen Dreiecks als aus Fig. 1 hervorgegangen zu denken ist; diese letztere ist ihrerseits aus dem gewöhnlichen Stäbchen entstanden. Ist dies nun wirklich so, dann ist es nicht schwer, aus dem Dreieck auch alle die übrigen Formen herzuleiten.

Die Fähigkeit, Verzweigungen zu bilden, ist eine, wie bekannt, höchst seltene Erscheinung unter den stäbchenförmigen Bakterien — soviel mir bekannt ist, wurde dieselbe bisher bloß bei *B. tuberculosis* und *B. diphtheriae* konstatiert — obgleich sie bei Vibrionen und Spirillen laut den Untersuchungen Kutscher's<sup>1)</sup> und Zetnow's<sup>2)</sup> augenscheinlich nicht selten ist. Zetnow giebt Abbildungen von den sich verzweigenden Formen, die er bei *Sp. Undula*, *Sp. serpens*, *Vibrio rugula* und *B. flagellotortus* beobachtet hatte; beim Vergleich derselben mit meinen Abbildungen muß ich jedoch sagen, daß bei dem von mir beschriebenen Mikroorganismus die Neigung zur Bildung von Verzweigungen bedeutend schärfer ausgedrückt ist; bei allen von Zetnow angeführten Formen begnügt sich die Mehrzahl mit der Bildung von sozusagen Sprossen; als wirklich sich verzweigende Form kann man bei ihm bloß *V. rugula* betrachten, welche bis zu einem gewissen Grade an meine Fig. 4 und 7 erinnert. Kutscher beobachtete augenscheinlich stärker verzweigte Formen, die an meine Fig. 10—13 erinnern, da er aber leider sich bloß mit einer kurzen Beschreibung begnügt und keine Abbildungen anführt, so wird ein Vergleich zwischen denselben unmöglich. Meine Fig. 1—4 könnte man in gewissem Grade noch mit den Bakteroiden *Rhizobium leguminosarum* vergleichen, soweit es möglich ist nach den Abbildungen, die M. Laurent in seiner Arbeit: *Recherches sur les nodosités radicales des legumineuses*<sup>3)</sup> anführt.

Auf jeden Fall ist es sicher, daß eine so deutlich ausgeprägte Neigung bei dem von mir beschriebenen Mikroorganismus zur Bildung von Verzweigungen, und dabei bloß in Bouillonkulturen, d. h. unter Verhältnissen, bei welchen die kürzeren Stäbchen die Form von Vibrionen und Spirillen annehmen, als höchst charakteristisches Artenmerkmal dienen kann. Ich muß hier übrigens bemerken, daß die verzweigten Formen beim genannten Mikroorganismus nicht sehr häufig zur Beobachtung gelangen — man muß eine solche Bouillonkultur als sehr günstig betrachten, aus welcher ein jedes Präparat 3—4 verzweigte Formen enthält, in manchen Kulturen trifft man diese Formen zuweilen gar nicht oder dieselben sind so selten, daß man bloß zufällig auf sie stößt. Worin der Grund einer derartigen Verschiedenheit liegt, läßt sich natürlich schwer sagen; die Fleisch-peptonbouillon wird von mir stets nach einem und demselben Rezept

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XX. 1895. p. 46.

2) Idem. Bd. XXIV. 1897.

3) Annales de l'Institut Pasteur. 1891.



zubereitet, zur Anlage von Kulturen wurden stets Probierröhrchen benutzt und dieselben im Thermostaten bei 30° C gehalten. Außerdem wurden alle Kulturen in Agar angelegt und trotz alledem war die Anzahl der auftretenden verzweigten Formen stets höchst verschieden. Der einzige Einfluß, den ich in gewissem Maße beobachten konnte, lag augenscheinlich in der Verschiedenheit der benutzten Fleischart, da die Unterschiede eben am deutlichsten in solchen Portionen Bouillon hervortraten, die zu verschiedenen Zeiten zubereitet worden waren, folglich in denen, die nicht aus dem Fleische eines und desselben Tieres stammten.

Um in die Erklärung der Ursachen einiges Licht zu bringen, welche auf das Erscheinen der verzweigten Formen einwirken, unternahm ich einige Versuche, um die Einwirkung von Licht, Wärme und einigen antiseptischen Mitteln auf die Bouillonkulturen deutlich zu machen. Bouillonkulturen, dem gewöhnlichen Tageslicht ausgesetzt, unterschieden sich in nichts von denen, die im Dunkeln gehalten wurden; ein gewisser Unterschied bestand übrigens darin, daß die Entwicklung der ersteren merklich zurückgehalten wurde. Bouillonkulturen, die bei gewöhnlicher Temperatur, bei 30° C und bei 45—48° C (alle im Dunkeln) gezüchtet wurden, wiesen ebenfalls nichts Besonderes auf; bei den beiden ersteren erwies sich ein kleiner Unterschied in der Schnelligkeit, mit welcher sich dieselben entwickelten, da bei 30° C die Entwicklung schneller vor sich ging; bei 45—48° C entwickelten sich die Kulturen im Laufe von 4 Tagen gar nicht, so daß man die letztere Temperatur als verderblich für die Mikroorganismen betrachten kann. Was nun die antiseptischen Mittel betrifft, so verwandte ich bloß diejenigen von ihnen, die von Guignard und Charrin benutzt wurden, um die unter dem Einflusse derselben vor sich gehenden morphologischen Veränderungen von *B. pyocyaneus* darzuthun, d. h. ich nahm Bouillon mit 4 Proz. Alkohol, mit 0,7 und 0,06 Proz. Borsäure, mit 1 Proz. Kreosot, mit 0,02 Proz.  $\alpha$ -Naphtol und mit 0,015 Proz. Kaliumbichromat, außerdem machte ich eine Impfung mit 4 Proz. Milhzucker, wobei folgende Resultate erhalten wurden:  $\alpha$ -Naphtol und 0,7 Proz. Borsäure verhinderten die Entwicklung des Mikroorganismus, Spiritus, Kreosot, 0,06 Proz. Borsäure und Milhzucker verursachten keinen Unterschied bei gewöhnlicher Bouillon, bloß daß keine verzweigten und mißgestalteten Formen in der Bouillon zu bemerken waren. In der Bouillon mit Kaliumbichromat ging die Entwicklung sehr langsam vor sich, unter dem Mikroskop konnte man bloß sehr kleine und sehr bewegliche Diplobacillen beobachten, mehr oder weniger deutlich ausgebildete Stäbchen und, noch weniger, gestreckte Formen kamen gar nicht vor. Auf diese Art erwies es sich, daß alle diese Mittel keine spezifische Wirkung auf die Morphologie des zu beschreibenden Mikroorganismus hervorzu bringen imstande waren, mit Ausnahme von Kaliumbichromat, welches seinen Einfluß darin äußerte, daß die Entwicklung nicht weiter als bis zur Bildung von Mikrobakterien ging.

In Bierwürze gedeiht der Mikroorganismus nicht. Im wässerigen Auszuge von Dünger geht die Entwicklung normal vor sich, nur werden keine verzweigten und mißgestalteten Formen gebildet. Im

hängenden Tropfen Bouillon findet ebenfalls keine Bildung von verzweigten Formen statt, man beobachtet hier vorzugsweise kurze Stäbchen, ganz wie auf harten Nährsubstraten; nach 3—4 Tagen erscheinen Vibrioformen. In Milch gedeiht der Mikroorganismus gut, die Bildungen sind dieselben wie in Bouillon, man begegnet verzweigten und mißgestalteten Formen; im Verlaufe einer 10 tägigen Beobachtung stellte die Milch selbst keine Veränderungen dar.

Das in Obigem Mitgeteilte bildet den Nachtrag zur Beschreibung meines Mikroorganismus No. 3. In Bezug auf seine morphologischen und physiologischen Eigenschaften als energischer Denitrifikator würde ich für denselben die Bezeichnung *Vibrio denitrificans* vorschlagen.

In betreff der Kulturen von *B. pyocyaneus* will ich bloß in einigen Worten über das grüne Pigment desselben etwas erwähnen. Der von mir aus dem Dünger isolierte *B. pyocyaneus* färbte im Laufe von 2 Jahren, bei allen Ueberimpfungen, alle Nährsubstrate intensiv dunkelbraungrün, erst nach Ablauf dieser Zeit fing bei ferneren Uebertragungen auf frische Nährsubstrate die Produktion von Pigment merklich zu sinken an und ich begann die Prüfung auf seine denitrifizierende Fähigkeit erst dann, als meine Agarkultur dieses Mikroorganismus, ungeachtet dessen, daß sie noch braungrün gefärbt war, bei allen ferneren Uebertragungen, die mit dieser Kultur gemacht wurden, kein Pigment mehr produzierte. Man brauchte aber bloß eine Uebertragung auf Bouillon mit Nitrat zu machen, als die Fähigkeit, Pigmente zu bilden, von neuem zum Vorschein kam, da alle derartigen Bouillonkulturen ohne Ausnahme sich grün und nach 5—7 Tagen dunkelbraungrün färbten; dabei ergab aber die Rückimpfung aus der grünen Nitratbouillon auf gewöhnliche Substrate abermals vollständig farblose Kulturen. Folglich fördert das Nitrat die Produktion von grünem Pigment bei *B. pyocyaneus*, ist aber nicht imstande, Kulturen, die auf gewöhnlichen Substraten wachsen, diese Fähigkeit zurückzugeben, wenn sie dieselbe schon früher einmal verloren hatten. Wenn man diese Farbenänderungen, nach Gessard, auf Rasseveränderung meiner Kultur zurückführen will, so stellte meine ursprüngliche Kultur die normale Rasse A vor, während später, im Laufe der Zeit, dieselbe sich in Rasse S verwandelt; bei der Uebertragung in Nitratbouillon jedoch und zurück, auf Substrate ohne Nitrat, findet wiederum dieselbe Veränderung der Rasse statt.

Hiermit die Beschreibung meiner Kulturen beschließend, will ich zur Schilderung der Versuche übergehen, die von mir unternommen wurden, um die denitrifizierende Fähigkeit von No. 3 und *B. pyocyaneus*, als des energischsten Nitratzersetzers, aufzuklären.

Zu allererst drängte sich natürlich die Frage auf, welcher Art die denitrifizierende Energie sei, d. h. welche Mengen von Nitraten, bei bestimmten Verhältnissen, dieselben zu zerstören imstande waren.

(Schluß folgt.)

## Weitere Beobachtungen über die Octosporushefe.

Von

M. W. Beijerinck.

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Die hellbräunlichen Kolonien ergeben sich bei der Aussaat als konstant und erblich asporogen.

Bei der Aussaat der „weißen“ Kolonien entstehen neben vielen weißen wieder einige „braune“, woraus sich, wie zuvor, die asporogene Form als konstante Rasse ableiten läßt, sowie zahlreiche „Mischkolonien“.

Werden von den sehr leicht braunen „Mischkolonien“ neue Kolonienaussaaten angelegt, und zwar ebenfalls auf Würzeagar, so ergibt sich, daß sie ebenfalls in „weiße“ und „braune“ zerfallen, nur in anderem Verhältnisse wie bei der Aussaat der weißen, wovon sie offenbar nur graduell verschieden sind.

Sät man nämlich den Mischkolonien entlehntes Material auf Würzeagar, so entstehen daraus die braunen, vollständig asporogenen Kolonien vielleicht zu 1 Proz. in Bezug auf die weißen, ascenführenden. Werden dagegen die weißen Kolonien auf gleiche Weise untersucht, so mag die Zahl der sich daraus bei direkter Aussaat bildenden braunen, gänzlich asporogenen Kolonien gegen Zweitausend sein. Daß bei einem so ungünstigen Verhältnisse die vegetativen Zellen dennoch im Laufe der Zeit so stark in den gewöhnlichen Reinkulturüberimpfungen vorherrschen, hängt mit deren stärkerem Vermehrungsvermögen unter ungünstigen Bedingungen (z. B. Erschöpfung des Nährbodens, Luftmangel, zu hohe Temperatur) zusammen.

Da ich die Zahl der „braunen“, asporogenen Kolonien bei erster Isolierung aus den Rohmaterialien ungefähr beurteilen kann, glaube ich, daß, wenn dazu irgend eine Veranlassung vorlag, es leicht sein würde, aus dem Verhältnisse zwischen Ascen und vegetativen Zellen in den älteren Reinkulturen zur Zeit, wenn wegen Erschöpfung des Nährbodens kein Wachstum mehr stattfindet, auf jene erste Isolierungszeit derselben zu schließen. Doch halte ich die Sache im Augenblicke noch nicht für wichtig genug, um darauf Zeit zu verwenden, und nur eins wünsche ich, um den Gang dieser Verhältnisse anzuweisen, noch zu bemerken: Bei den frisch aus den Waschwässern der Orientfrüchte isolierten Kulturen erzeugen auf geeigneten Würzeagarplatten alle Zellen nach ganz wenigen Teilungen ohne Ausnahme Ascen unabhängig vom Nahrungsüberschuß. Dann keimen in den eigenen (nicht übergeimpften) Kulturen viele Ascosporen in den Kolonien selbst sofort wieder aus und hierbei entstehen permanent asporogene Zellen und zahlreiche neue Ascen. Allmählich, und wie es scheint, nach einem bestimmten Gesetze, vermehrt sich unter dem Einflusse des Lebens im Laboratorium die Zahl der vegetativen Zellen,

welche keine Ascen erzeugen, bei jeder neuen Ueberimpfung, soweit diese ohne Kolonieenselektion geschieht, ohne daß dabei zunächst äußerlich unterscheidbare Kolonien sichtbar werden. Endlich wird das innere Gleichgewicht so sehr gestört, daß braune Flecke, welche gänzlich aus erblich asporogenen Zellen bestehen, da und dort auf dem Impfstiche zur deutlich makroskopisch sichtbaren Ausbildung gelangen.

Die asporogene Rasse hat folgende Eigenschaften: Die Mehrheit der Zellen ist beinahe ganz rund und nur kurz vor der Teilung etwas ellipsoidisch gestreckt (vergl. Taf. VIII, Fig. 3). Die Vermehrung findet in den Kolonien auf Würzelgelatine zunächst nach dem gewöhnlichen Schema unter „Jochbildung“ statt (Taf. VII, Fig. 1), beim Aelterwerden der Kultur dagegen nur durch sehr regelmäßige Zweiteilung, wobei die Teilprodukte einander meistens sofort verlassen, ohne die eigentümlichen „Joche“ zu erzeugen, welche für die ascenbildende Rasse (Taf. VII, Fig. 2) so charakteristisch sind. Untersucht man die auf Würzelgelatine gealterten Kulturen der vegetativen Rasse zur Zeit, wenn durch Erschöpfung des Nährbodens das Wachstum still steht, so ist der Zustand folgender: Zahlreiche Zellen sind beträchtlich geschwollen, jedoch durchaus nicht so stark wie bei der Ascenbildung, und mit der Anschwellung ist bei anderen Zellen eine erneute Zellteilung einhergegangen, oft mit aufeinander senkrecht gerichteten Wänden, wodurch ein sarcineartiges Aussehen entsteht. Solche Zellgruppen sind jedoch meistens nur 4-, 5- oder 6-zellig. Die großen angeschwollenen Zellen zeigen mit außerordentlicher Klarheit einen großen abgeplattet-kugeligen, oft doppelten Zellkern im Protoplasma. In flüssiger Würze kultiviert, ist die Verschiedenheit zwischen den beiden Rassen viel geringer, da sowohl bei der sporenbildenden wie bei der asporogenen nicht nur zweizellige Joche vorkommen, sondern ebenfalls Zellfäden von 3—4 Zellen, sowie die für *Schizosaccharomyces* so eigentümlichen Tetraden und Octaden. Die einzige, wie ich glaube, konstante Verschiedenheit besteht darin, daß die Zellen einer asporogenen Gärung im Mittel etwas kleiner sind wie diejenigen einer sporogenen, doch ist auch dieser Unterschied sehr gering.

Auch in den jungen Kolonien auf Würzelgelatine und Agar sind die Verschiedenheiten noch nicht ausgeprägt, so daß die Fig. 1, welche eine sehr junge Koloniekultur von der asporogenen Form zur Ansicht bringt, nicht anders sein würde, wenn Kolonien, vom gleichen Entwicklungsstadium aus Ascosporen hervorgegangen, photographiert wären.

Obschon die Rassenbildung (oder Polymorphie) auch bei mehreren anderen Hefearten sehr ausgesprochen vorkommt und sich dabei sowohl in dem allgemeinen Habitus wie in Bezug auf die Ascosporenbildung äußert, ist mir trotz vieler Erfahrung auf diesem Gebiete noch niemals ein Beispiel bekannt geworden, wo neben einer so prägnanten morphologischen Differenz zwischen den Rassen auch so viele, sehr bemerkenswerte physiologische Unterschiede zur Ausbildung gelangt sind wie hier.

Als solche nenne ich in erster Linie das starke Zurücktreten der Trypsinbildung bei der asporogenen Rasse, während diese Funktion,

unter noch näher zu besprechenden Verhältnissen, bei der ascenbildenden Rasse sehr stark ausgebildet ist. Ich erinnere ferner an den sehr deutlichen Farbenunterschied, welcher selbst in den Sedimenten der Gärungen zu bemerken ist, durch die entschieden dunklere Farbe der vegetativen Rasse. In Bezug auf die Blaufärbung durch Jod sei bemerkt, daß diese nur an den Sporenwänden zu erzielen ist, deshalb ebenfalls bei der vegetativen Rasse nicht vorkommen kann. Im Wachstum der Kolonien auf der Nährgelatine sind deutliche Verschiedenheiten bemerkbar. Ebenso in der nicht unbeträchtlichen Säurebildung, welche für alle drei *Schizosaccharomyces*-arten, welche bis jetzt bekannt sind, charakteristisch ist — sie ist bei der vegetativen Rasse höher wie bei der sporogenen.

Eigentümlich ist auch, daß in den Kulturen der asporogenen Form so viele abgestreifte Zellwände vorkommen, welche bei der sporogenen Rasse fehlen, wobei sie wohl durch die Wände der entleerten Ascen ersetzt werden.

Die beste Methode, um die für Vergärung fähigen Zuckerarten festzustellen, besteht in der Auflösung von ca. 10 Proz. des zu untersuchenden Körpers in angesäuertem Hefewasser (10–20 g Preßhefe abgekocht in 100 g Wasser und klar filtriert) und Aussaat der zu untersuchenden Hefe in dieser Flüssigkeit im Gärungskölbchen <sup>1)</sup>.

Auf diese Weise untersucht, konnte ich für beide Rassen meine früheren Angaben nur auf gleiche Weise bestätigt finden, so daß ich darauf hier nicht weiter einzugehen brauche <sup>2)</sup>.

Uebrigens sind in dem Verlaufe der Alkoholgärung kleine Differenzen unverkennbar, so verläuft die Angärung am schnellsten bei der asporogenen, die Hauptgärungen dagegen bei der sporogenen Form.

Die Frage, ob die Entstehung der asporogenen Rasse auf unbekannten und zunächst sich dem Experiment entziehenden Verhältnissen, d. h. auf „Keimesvariabilität“ beruht, oder durch „Angewöhnung“ an bestimmte Lebensverhältnisse, oder auf andere Weise künstlich herbeigeführt werden kann, — diese Frage konnte ich noch nicht zu meiner völligen Befriedigung beantworten; vielleicht werde ich Gelegenheit haben, darauf später zurückzukommen. Ich wünsche hier noch hervorzuheben, daß meine *Octosporus*-hefe in morphologischer und kultureller Hinsicht ein besonders geeignetes Material darstellt für das Studium solcher Fragen überhaupt, und ich erlaube mir diejenigen Biologen, welche sich mit dem so wichtigen physiologischen Vorgange der Zellvariabilität beschäftigen, darauf aufmerksam zu machen.

Ehe ich diesen Paragraphen abschließe, noch ein Wort über die Rassenbildung bei den anderen Hefen.

Einmal darauf aufmerksam geworden, konnte ich bei *Schizosacch. asporus* in den Agarkulturen ohne Mühe „braune“ und

1) Meine Gärungskölbchen fassen in dem geschlossenen Bein ca. 25 cm<sup>3</sup> und sind mit aufgeschliffener Glaskappe verschlossen.

2) Bei dieser Gelegenheit wünsche ich zu bemerken, daß, während die *Octosporus*-hefe Rohrucker nicht vergärt, der von Herrn Eykman in den Aratgärungen auf Java entdeckte *Schizosaccharomyces asporus* dieses wohl thut, und zwar mit ziemlich starker Intensität.

„weiße“ Kolonien finden, welche offenbar den weißen und den „Mischkolonien“ bei *Sch. octosporus* entsprechen. Dieses war um so mehr bemerkenswert, weil *Sch. asporus* keine Ascosporen erzeugt. Es ergab sich, daß die weißzelligen Kolonien nur aus dicken, kurzen, die braunen sowohl aus dicken, kurzen, wie aus langen, dünnen Zellen bestehen. Die weißen Zellen erzeugen in den erschöpften Kulturen viel mehr stark und unregelmäßig angeschwollene Zellen wie die braunen und machen den Eindruck, daß sie der ascenführenden Rasse bei *S. octosporus* entsprechen. Die so erhaltenen Rassen sind bisher konstant geblieben.

Bei *Sch. pombe* konnte ich „braune“ und „weiße“ Kolonien ebenfalls auffinden und zugleich eine anderweitige Spaltung in zwei Rassen erzielen, wovon die eine viel mehr Sporen erzeugt wie die andere.

Merkwürdigerweise fand ich eine Spaltung in „braune“ und „weiße“ Kolonien bei der ersten besten Weinhefe, welche ich darauf untersuchte, doch konnte die Beziehung zur Ascosporenbildung hier nicht so deutlich festgestellt werden, so daß die Erscheinung den vorhergehenden Angaben vielleicht nicht angereicht werden kann und für eine theoretische Betrachtung, welche übrigens genügend auf der Hand liegt, fehlt mir zur Zeit noch ausreichendes Beobachtungsmaterial, um darüber etwas wirklich Interessantes und Abschließendes zu sagen.

#### 4. Proteolytische Erscheinungen bei Alkoholhefen.

Wohl alle Alkoholhefen können unter Umständen in alten Kulturen ihre Nährgelatine zur Verflüssigung bringen. Die Eigenschaft ist jedoch bei den verschiedenen Arten außerordentlich verschieden ausgeprägt und selbst bei den Subvarietäten derselben Art oder Varietät verschieden. So finden sich in der Oberhefe der Brauerei d'Oranjeboom zu Rotterdam immer zwei solche Subvarietäten, welche sich durch große Verschiedenheit in ihrem Verflüssigungsvermögen auszeichnen. Weil dort mit Reinkulturen gearbeitet wird, und zwar auf sehr rationelle Weise, muß die Verschiedenheit sich schon nach wenigen Zellteilungsgenerationen immerfort wieder ausbilden.

Die zunächst der Erscheinung zu Grunde liegende Ursache lernte ich durch ein genaues Studium der Proteolyse bei der *Octosporus*-hefe kennen. Diese Art gehört nämlich zu den am stärksten verflüssigenden Alkoholhefen, welche es überhaupt giebt, und eignet sich durch die riesige Größe ihrer Ascen für mikroskopische Untersuchung bezüglich des Ursprunges des proteolytischen Enzyms. Ehe ich aber das hierbei erhaltene Resultat erwähne, wünsche ich die Frage zu beantworten, ob das Enzym als Pepsin oder als Trypsin bezeichnet werden muß.

Bekanntlich ist das hierbei ausschlaggebende Kriterium das Maß der Alkalinität oder der Acidität, wobei die optimale Proteolyse stattfindet. Ich habe nun zunächst die verschiedenen in der Litteratur angeführten Methoden zum Bestimmen von Pepsin und Trypsin nachgeprüft und habe schließlich als für meinen bestimmten Zweck am besten geeignet folgendes Verfahren befolgt:

Eine Lösung reiner Gelatine in destilliertem Wasser wird in gleiche Partien verteilt und diese werden entweder mit Natriumkarbonat alkalisch gemacht, in der Weise, daß eine Präparatenreihe entsteht, welche resp. 1, 2, 3, 4, 5 und 6 cm<sup>3</sup> Normalsäure für die Neutralisation von 100 cm<sup>3</sup> des Präparates erfordern, andererseits eine zweite Präparatenreihe, welche durch Salzsäure soweit angesäuert wird, daß für 100 cm<sup>3</sup> der Gelatine resp. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 und 10 cm<sup>3</sup> Normallauge gefordert werden.

Alle diese 16 Gelatinepräparate werden nun in kleine Glasdosen zu sehr dicken Schichten ausgegossen und erstarren gelassen. Auf die so erhaltenen Platten werden gleiche Tropfen der zu untersuchenden Materialien gebracht, alle werden bei gleicher Temperatur von ca. 20° C aufgestellt, und es wird beobachtet, wie tief die Tropfen nach 24 Stunden eingesunken und wie weit sie sich seitlich ausgedehnt haben, wobei eine sehr hübsche Scala entsteht. Es hat sich ergeben, daß das Verfahren außerordentlich genaue Messungen erlaubt und zum Nachweise mikroskopisch geringer Quantitäten der Enzyme Vorzügliches leistet<sup>1)</sup>.

Ich will nun noch vorher angeben, welches Resultat die bereits im Handel vorkommenden Enzympräparate, nach dieser Methode untersucht, ergeben haben. — Für das Trypsin: 1) Alle Trypsinpräparate<sup>2)</sup> verflüssigen die alkalischen Gelatinen und diejenigen Gelatinen mit 1 cm<sup>3</sup> Normalsäure pro 100; die optimale Verflüssigung tritt ein bei ca. 2—3 cm<sup>3</sup> Normalalkali pro 100. 2) Die besseren Pankreaspräparate verflüssigen noch, wenn auch schwach, bei einem Säuregehalte von höchstens 6 cm<sup>3</sup> und wird die Verflüssigung erst bei 10 cm<sup>3</sup> (wenn auch nicht absolut) gleich Null. — Für das Pepsin ergab sich: 1) das Optimum der Verflüssigung für die verschiedenen im Handel vorkommenden (sowie eigens angefertigten Präparate) liegt bei 3—6 cm<sup>3</sup> Normalsäuregehalt. 2) Bei 1 cm<sup>3</sup> Säure ist die peptische Wirkung sehr gering. 3) Bei alkalischer Reaktion, selbst schon bei 1 cm<sup>3</sup> Normalalkali, findet keine peptische Verflüssigung mehr statt.

In den meisten Fällen konnte ich, wie man aus dem Vorhergehenden sieht, für den qualitativen Nachweis mit zwei Versuchen auskommen, nämlich mit einer Gelatine, welche alkalisch war, und zwar zu 2—3 cm<sup>3</sup> Normallauge auf 100, und einer zweiten Gelatine, welche sauer war, zu 6 cm<sup>3</sup> Normalsäure auf 100. Fand auf ersterer Verflüssigung statt, so mußte auf Trypsin geschlossen werden, während Verflüssigung der zweiten erst dann auf Pepsin schließen ließ, wenn auch noch bei 10 cm<sup>3</sup> Säure eine wenn auch geringere Verflüssigung zur Beobachtung kam.

Bei der Untersuchung der Proteolyse durch Alkoholhefen mußte

1) Für die Beobachtung bei höheren Temperaturen habe ich ein ähnliches Verfahren ausgearbeitet, wobei ich Fibrin oder Casein, in Agarplatten eingeschlossen, verwende. Für meinen gegenwärtigen Zweck brauche ich darauf nicht weiter einzugehen.

2) Ich habe auch die lebenden Blätter von *Carica papaya* nach diesem Verfahren untersucht, sowie einige insektivore Pflanzen, ferner gewisse Früchte, wie Feigen etc., sowie das Fleisch mehrerer Hutschwämme, stets mit sehr scharfen Resultaten.

ich diese vergleichende Methode deshalb wählen, weil ich von vornherein gefunden hatte, daß dieselben sowohl auf alkalischem wie auf sauerem Boden verflüssigend wirken. Inzwischen war das Resultat nicht zweifelhaft: Das Enzym aller Alkoholhefen wirkte viel kräftiger auf den alkalischen Böden wie auf den sauern und zeigt schon bei 6 cm<sup>3</sup> Normalsäure überhaupt keine verflüssigende Wirkung mehr. Das Enzym der Alkoholhefen gehört also zu der Gruppe der Trypsine und ist durchaus kein Pepsin<sup>1)</sup>. Wie ich erwartete, lehrte der Versuch, daß das Hefetrypsin auch Gluten, Casein, Albumin und Fibrin angreift.

Ich komme nun zur Besprechung meiner mikroskopischen und anderweitigen speziellen Beobachtungen.

Das Trypsin ist ein durch Agarplatten und durch Pergamentpapier sehr leicht diffundierendes Enzym, welches sich durch jene Substrate ungefähr mit der Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Peptone (etwas langsamer wie Rohrucker) fortbewegt. Man konnte deshalb annehmen, daß dasselbe auch leicht aus den geschlossenen Zellen der Alkoholhefen nach außen treten kann, und ich bin überzeugt, daß dieses unter Umständen auch wirklich geschieht<sup>2)</sup>. Allein meine früheren Versuche über die Laktase der Kefirhefe hatten ergeben, daß dieses ebenfalls diffusionsfähige Enzym nur unter bisher unbekannten Verhältnissen aus den Zellen heraustritt. Auch fand ich, daß die Zymoglukase, d. i. das Enzym, welches innerhalb der Bier- und Preßhefezellen die Maltose in Glukose verwandelt, niemals nach außen tritt. Für die Bereitung sowohl der Laktase wie der Zymoglukase ist es darum notwendig, die Zellen zuvor durch Zerreiben zwischen Glasplatten oder mit Sand im Mörser zu öffnen und zu zerreißen. Ich mußte von vornherein annehmen, daß solche Verhältnisse auch bezüglich der Erzeugung des Trypsins durch die Hefezellen vorliegen könnten. Da ich ferner wußte, daß bei der angegebenen Darstellungsmethode nicht immer Zymoglukase, resp. Laktase erhalten werden, sondern daß dafür noch bestimmte, nicht gut bekannte physiologische Bedingungen realisiert sein müssen, so war ich auch für das Hefetrypsin darauf vorbereitet, daß besondere Umstände sowohl bei dessen Entstehung innerhalb der Zelle, wie beim Hervortreten desselben nach außen eingreifen könnten.

Aus der Biologie der Trypsinbildung ist nun wenigstens ein solcher Umstand viel besser bekannt wie bei den anderen Enzymen,

1) Mit dem Pankreastrypsin halte ich, wie gesagt, dasselbe nicht für völlig identisch.

2) So ist es eine bekannte und nicht unwichtige praktische Erfahrung, daß beim Brotbacken Preßhefe sehr viel besser wirkt wie Bierhefe, so daß kein vernünftiger Bäcker gegenwärtig mehr Bierhefe in seinem Betriebe zuläßt. Eine eingehendere Untersuchung hat mich nun Folgendes gelehrt: Beim Vermischen des eingeteigten Mehles mit Hefe wird ein wenig Trypsin in Freiheit gesetzt (also wohl — jedoch nicht sicher — aus den unverletzten Zellen). Bierhefe erzeugt viel mehr Trypsin wie Preßhefe und das Enzym wird durch diese Hefe auch in geringer Menge während der Gärung im Teige neu gebildet. Dadurch erweicht das Gluten in bedenklicher Weise. Beim „Durchschlagen“ des Teiges entweicht demzufolge die Kohlensäure sofort. Preßhefe erzeugt dagegen viel weniger Trypsin und läßt das Gluten unberührt, so daß beim „Durchschlagen“ die Kohlensäure nicht entweichen kann, sondern in Tausende von kleiner und kleiner werdenden Bläschen verteilt wird, welche dem Teige die gewünschte gleichmäßige „Schaumstruktur“ verleihen.



nämlich, daß sich innerhalb der Zellen eine Vorstufe desselben befindet, das Trypsinogen<sup>1)</sup>, welches erst bei bestimmten Bedingungen das Trypsin in Freiheit kommen läßt. Zu diesen bestimmten Bedingungen gehört aber das Absterben der Zellen auf eine durchaus nicht gleichgiltige Weise. Wirft man z. B. eine lebende Pankreasdrüse in Alkohol, so ist das Trypsin verloren, denn die Zellen sterben so schnell, daß sie nicht Zeit haben, Trypsin zu erzeugen<sup>2)</sup>. Läßt man dagegen ein Pankreas während einer Nacht in einem warmen Zimmer absterben, so hat sich am anderen Tage massenhaft Trypsin gebildet, welches aus den wässerigen Extrakten mit starkem Alkohol als sehr aktives Pulver präcipitiert werden kann.

Es scheint nun, daß dergleichen Verhältnisse ebenfalls vorherrschen bei der Entstehung des Trypsins aus den Alkoholhefezellen. Auch hier scheint ein langsames Absterben die eigentliche Vorbedingung für die Trypsinbildung zu sein, wenigstens lehrt das Mikroskop, daß Kulturen mit viel Trypsin stets viel tote Zellen enthalten und daß die Vermehrung beider stets parallel geht. Das Absterben muß jedoch auf eine ganz bestimmte Weise stattfinden. Wird frische Hefe — ob *Octosporus*hefe oder irgend eine andere Art, ist gleichgiltig — getötet durch plötzliches Einwerfen in Alkohol, so ist das Trypsin ebenso sicher verloren wie bei dem gleichen Versuche mit der Pankreasdrüse. Findet dagegen ein langsames Zerreiben mit Sand im Mörser statt, so kann, wenn das Zerreiben nur lange genug dauert, eine schwache Trypsinbildung konstatiert werden. Bei meinen oben angedeuteten Versuchen zur Darstellung von Zymoglukase habe ich dann auch immer nebenbei Hefetrypsin in geringer, jedoch in sehr abwechselnder Menge erhalten.

Bei weitem das beste Verfahren, um das Enzym zu bekommen, ist, die Kulturen auf Nährgelatine altern zu lassen, wobei die Gelatine verflüssigt und eine neutrale, alkalische<sup>3)</sup>, oder saure Flüssigkeit erhalten wird, woraus sich Trypsinpräparate von beträchtlicher Wirksamkeit darstellen lassen. Alle solche Kulturen ergeben bei kultureller und mikroskopischer Untersuchung, daß darin massenhaft tote Zellen vorkommen, welche offenbar äußerst langsam abgestorben sind, und sie lassen darüber keinen Zweifel, daß die Trypsinbildung darin als nekrobiotischer Vorgang aufgefaßt werden muß. Es scheint mir nicht aussichtslos, daß solche alte verflüssigte Kulturen sich ebenfalls

1) Für das Trypsinogen (Zymogen) zu vergleichen: Heidenhain in Hermann, Handbuch der Physiologie. Bd. V. Teil I. 1888. p. 188. Ob das „Trypsinogen“ nicht einfach identisch ist mit dem „lebenden Protoplasma“ der betreffenden Pankreaszelle, ist eine Frage, auf welche ich hier nicht eingehen kann.

2) Die Diastase kommt dagegen gleich gut aus den mit Alkohol getöteten, wie aus den langsam absterbenden Pankreaszellen, wodurch es leicht ist, Pankreasdiastase zu bereiten, welche absolut frei von Trypsin ist, während das Umgekehrte, d. i. die Bereitung diastasefreien Trypsins aus Pankreas, nicht gelingt. Doch scheinen die Speicheldrüsen sich wieder anders zu verhalten, wie das Pankreas, denn Wannen spricht von Ptyalogen in ptyalinfreien Drüsen (Centralbl. f. Physiologie. Bd. VIII. 1894. p. 211).

3) Die meisten Hefen oxydieren die ursprünglich etwa beigegebenen Säuren auf geeigneten Substraten mehr oder weniger vollständig, so daß man bisweilen in den alten geschmolzenen Kulturen eine schwach alkalische Reaktion in ursprünglich sauren Kulturböden beobachten kann.



**Fig. 1**



**Fig. 2**

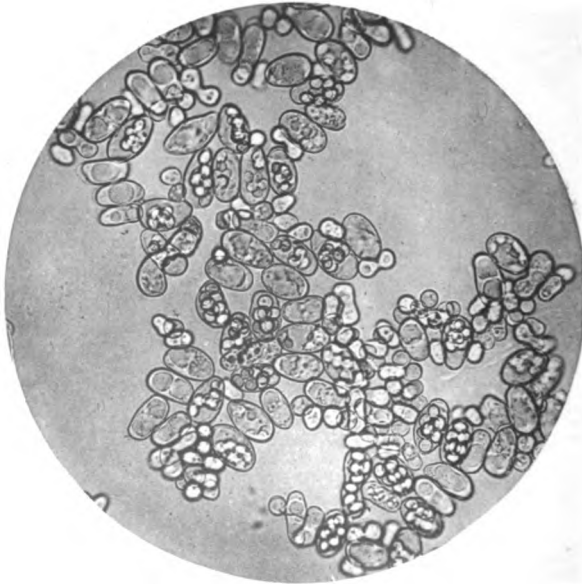
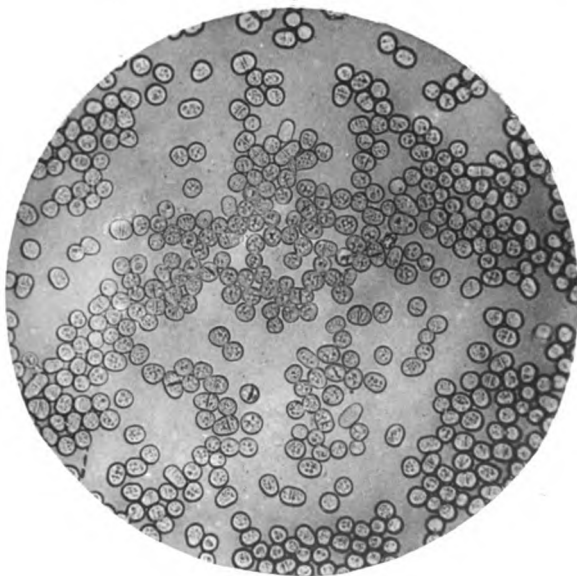


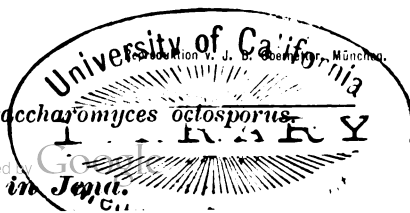
Fig. 3



BEIJERINCK, phot.

Sporogene und asporogene Rasse von *Schizosaccharomyces octosporus*.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.





besonders geeignet ergeben werden, um daraus bei Maltosehefen Zymoglukase, bei Laktosehefen Laktase zu bereiten.

Bei der Octosporushefe ergibt sich, daß ein großer Unterschied besteht in der Menge des gebildeten Trypsins bei den früher beschriebenen beiden Rassen. Indem nämlich die Ascenbildung mit starker Verflüssigung der Gelatine gepaart geht, findet dieses bei der vegetativen Rasse kaum oder überhaupt nicht statt, solange das Wachstum der Kulturen fort dauert. Die mikroskopische Untersuchung der Präparate giebt eine zureichende Erklärung dieser Verschiedenheit, denn während in den Gelatinekulturen der sporogenen Varietät an einem Punkte Ascen entstehen, öffnen sich die an anderen Punkten schon früher entstandenen, wobei die Sporen freien Austritt erlangen. Solche sich öffnende Ascen müssen als langsam absterbende Zellen betrachtet werden und geben faktisch die besten Bedingungen für Trypsinbildung ab. Die vegetative Varietät enthält dagegen in den noch fortwachsenden Kulturen keine oder nur relativ wenige absterbende Zellen, welche darin wenigstens nicht durch einen normalen Vorgang, wie die Ausreifung der Ascen dies ist, entstehen. Erst viel später, wenn durch Erschöpfung des Kulturbodens und des Zellinhaltes ein umfangreiches Absterben der Zellen stattfindet, bemerkt man auch bei der asporogenen Octosporushefe eine reichliche Trypsinbildung, ähnlich derjenigen bei anderen Alkoholhefen, welche keine Ascosporen erzeugen.

Die proteolytische Wirkung des Hefetrypsins ist eine sehr begrenzte, d. h. es wird nur wenig des dargebotenen Proteinkörpers durch eine bestimmte Trypsinmenge zersetzt, — das Trypsin selbst geht dabei verloren. Dieses gilt ebenfalls für das Pankreastrypsin und das Trypsin gewisser Aspergillusarten (welche allein ich in dieser Beziehung untersucht habe). Dieser Umstand scheint mir nicht genügend durch Herrn Fermi in seiner jüngsten Mitteilung (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. p. 1) beachtet zu sein. Jedenfalls ist der Ausdruck „antienzymatische“ Wirkung des Blutsersums, welchen dieser Autor verwendet, zu beanstanden, denn das Blut enthält z. B. sicher ein amylolytisches Enzym. Selbst im Urin findet sich ein solches, welches schon einen Namen hat: Nephrozymase. Auch frage ich, wo das beinahe gänzlich in den Faeces fehlende Trypsin der Darmcontenta eigentlich bleibt? Vielleicht wird Herr Fermi antworten, es wird resorbiert. Ich behaupte dagegen, daß es bei dem, vielleicht eben durch das Funktionieren verschwindet.

Bakteriologisches Laboratorium des Polytechnikums  
zu Delft, 10. Juli 1897.

#### Figurenerklärung zu Tafel VII und VIII.

Alles gehört zu *Schizosaccharomyces octosporus*.

Fig. 1 (420). Gewöhnliches Aussehen der jungen Kulturen beider Rassen auf Würregelatine.

Fig. 2 (420). Die sporogene Rasse, ausgewachsen, mit vielen in Ascusbildung begriffenen „Zelljochen“.

Fig. 3 (420). Die asporogene Rasse unter gleichen Bedingungen wie Fig. 2, ausgewachsen.

## Referate.

**Miyoshi, M.**, Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. Mit 1 Tafel. (Reprinted fr. the Journ. of the College of Science, Imperial University, Tōkyō, Japan. Vol. X. Pt. II. 1897. p. 143—168.)

Das heiße, stark nach Schwefelstoff riechende Wasser der Quellen des Bades Yumoto setzt alsbald reichlich feinzerteilten, die mit dem Wasser in Berührung stehenden Gegenstände (Steine, Vegetabilien etc.) dicht überziehenden Schwefel ab. Diese in Gestalt ansehnlicher Franzen, Fetzen, Lappen etc. auftretenden Schwefelausscheidungen bezeichnet Verf. kurz als „Schwefelrasen“; sie resultieren aus einer Zersetzung des Schwefelwasserstoffes, und inkrustieren z. T. auch die Gallertsubstanz einer in dem heißen Wasser vegetierenden Bakterienart. *Beggiatoen*, *Thiothrixen*, *Chromatium Weissii* u. a. kommen gleichfalls vor und Verf. unternimmt nun an diesem Orte, Art und Weise des Vorkommens speziell der Schwefelrasenbildung in Yumoto näher zu schildern. Die Arten werden aufgezählt, teilweise näher erörtert und eine Reihe von Versuchen angestellt, bezüglich deren Einzelheiten auf das Original verwiesen werden mag.

Zusammengefaßt ergaben sich folgende Resultate:

1) Die Schwefelrasen von Bad Yumoto (Nikko) und Bad Schibu entstehen durch die Ablagerung des Schwefels auf die im schwefelwasserstoffhaltigen Thermalwasser (51—70° C) vorkommende Bakterien-gallert. Im schnellfließenden Strome fällt der Schwefel in amorphen Körnchen oder unvollkommenen Kryställchen aus, dann sehen die Rasen mehr weiß als gelb aus. Im langsam strömenden Wasser setzt sich das Element in größeren Krystallen, meistens rhombischen Oktaedern, ab und verleiht den Rasen eine mehr gelbe Farbe.

2) In den Gallertmassen ist eine unzählige Menge von sensen-förmigen Bakterienzellen stets zu finden. Andersartige Zellen treten gewöhnlich zusammen mit den ersteren in größerer oder kleinerer Anzahl auf.

3) In Yumoto kommen 4 farblose und 5 rote Schwefelbakterien vor.

4) Das rote Schwefelbakterium, *Chromatium Weissii*, ist chemotaktisch reizbar: Es wird durch verdünnte Lösungen von Schwefelwasserstoff, Ammoniumnitrat, Kaliumnitrat, Ammoniakphosphat u. a. angelockt, dagegen durch höhere Konzentrationen dieser Stoffe, sowie durch die spezifischen Eigenschaften gewisser anderer Stoffe abgestoßen.

5) *Chromatium Weissii* ist durch Berührung reizbar, was oft zu einer dichten Haufenbildung führt.

Anhangs werden noch einige teilweise neue Arten von Schwefelbakterien kurz aufgezählt, die nach längerer Zeit sich in einem Kultur-

bassin entwickelt hatten. Die neuen werden als *Thiosphaerion violaceum*, *Thiosphaera gelatinosa* und *Thioderma rubrum* benannt.

Wehmer (Hannover).

**Miyoshi, M.**, Ueber das massenhafte Vorkommen von Eisenbakterien in den Thermen von Ikao. (Reprinted fr. the Journ. of the College of Science, Imperial University, Tōkyō, Japan. Vol. X. Pt. II. 1897. p. 139—142.)

In dem genannten Thermalwasser (41—45,5° C) fand Verf. reichlich Eisenbakterien, auf deren Beschreibung derselbe hier kurz eingeht. Eine Art scheint mit der *Lepthotrix ochracea* Kütz. identisch zu sein, aus deren Resten die eine der genannten Schlammproben fast ausschließlich zu bestehen schien. Andere erwiesen sich von etwas abweichendem Aussehen, hier überwogen gröbere oder feinere Körnchen von Eisenoxyd, welches durch Salzsäure leicht fortgelöst werden konnte. Das Wasser enthielt nach einer bez. Analyse 0,0214 g von doppeltkohlensaurem Eisenoxydul.

Wehmer (Hannover).

**Buchner, Eduard**, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. [Zweite Mitteilung.] (Berichte der Deutsch. chem. Gesellschaft. Jahrg. XXX. 1897. No. 9. p. 1110.)

Obwohl der Hefenpreßsaft durch Kieselguhrkerzen filtriert und demselben Chloroform zugesetzt werden kann ohne die Gärwirkung zu vernichten, haben sich doch gewichtige Stimmen dafür erhoben, daß vielleicht im Preßsaft befindliche winzige Stückchen von lebendem Protoplasma den Zerfall des Zuckers veranlassen können. Die neuen Versuche sprechen nicht zu Gunsten dieser Annahme.

Die Herstellung des Preßsaftes geschah nach der früheren Methode. Als Hefenmaterial diente wieder Münchner untergärige Bierhefe, wie sie, ein Abfallprodukt der Brauereien, bei der Preßhefefabrikation zur Anwendung kommt. Sog. Getreidepreßhefe, bezogen aus einer badischen Fabrik, lieferte einen Preßsaft, welcher auf Rohrzucker keine deutliche Gärwirkung ausübte.

Auch der wirksame Preßsaft, im Eisschrank aufbewahrt, wird nach 2 Tagen, bei gewöhnlicher Temperatur aber schon nach etwa 1 Tag unwirksam. An- oder Abwesenheit von Luft ist darauf ohne Einfluß. Wahrscheinlich muß die Ursache des Verderbens an dem Gehalt des Preßsaftes an peptischen Enzymen gesucht werden. Die Gegenwart von solchen hat M. Hahn konstatieren können, peptische Enzyme sind bei den Saccharomyceten schon mehrfach beobachtet worden. (Vergl. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. II. Abt. 1896. p. 92). Das Unwirksamwerden geht mit einer Abnahme von gerinnbarem Eiweiß einher.

Diese Hypothese erklärt auch die konservierende Wirkung von starkem Rohrzuckerzusatz. Bei dieser Veränderlichkeit des Preßsaftes und des Zymasevorrates in den Hefezellen ist ein recht verschiedener Wirkungswert des Preßsaftes mehrerer Darstellungen zu erwarten.

Zusatz von antiseptischen Mitteln, von Chloroform, von Benzol



und, wie H. Buchner ermittelt hat, von 1 Proz. Natriumarsenit vernichten die Gärwirkung nicht.

Der Preßsaft kann zum Trocknen gebracht werden, ohne seine Wirkung einzubüßen. Er behält dieselbe sicher 20 Tage, wahrscheinlich aber viel länger.

Auch durch Alkoholfällung ist es nach mehreren vergeblichen Versuchen einmal gelungen, eine wirksame Substanz zu isolieren. Fällungsversuche mit Ammonsulfat haben bisher noch keine positiven Resultate gehabt.

Als neuen Beweis für die Existenz der Zymase führt Verf. folgende Versuche auf:

Bierhefe, die mehrmals gewaschen, von oberflächlich anhaftendem Wasser in der hydraulischen Presse möglichst sorgfältig befreit und in sehr dünner Schicht ausgebreitet, 1—2 Tage an der Luft gelegen hatte, wurde bei 37° getrocknet. Die eine Hälfte derselben (A 18 g) wurde in mit Watte verschlossenen Kölbchen 6 Std. auf 100° erhitzt, wodurch die Hefe, wie Kontrollversuche zeigten, zu Grunde ging. Die zweite Hälfte (B) erhitze man 1 Std. auf 140—145°. Wurde der Inhalt beider Kölbchen unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln mit je dem doppelten Gewicht 37proz. steriler Saccharoselösung vermischt, so war bei A bei 37° nach 3 Std. ein gewaltiges Schäumen infolge Kohlensäureentwicklung zu bemerken, welches nach 5 Std. zum Uberschäumen der Masse aus dem Kölbchen führte, das aber nach etwa 10 Std. aufhörte. Bei B war keine Gasentwicklung zu bemerken. Die tote Hefe im Versuch A besaß demnach Gärwirkung, offenbar auf Grund ihres Zymasevorrates. Verf. weist hier auf die Beobachtungen des Ref. (Zeitschr. ges. Brauw. Bd. XIX. 1896. p. 560) hin, nach welchen bei niedriger Temperatur getrocknete und nach 9-jähriger Aufbewahrung nicht mehr entwicklungsfähige Hefe noch Gärungserscheinungen hervorrief. Ref. hatte schon damals auf die Möglichkeit hingewiesen, daß auch tote Hefezellen noch Gärung erregen können; es würde sich um ein, durch den Lebensprozeß der Hefe erzeugtes Enzym handeln, das unabhängig von letzterer den Zucker in Alkohol, Kohlensäure etc. spaltet.

Durch 1 stündiges Erhitzen auf 140—145° wird aber auch die Zymase vernichtet. (Versuch B.) Dieselbe steht demnach, was ihre Veränderlichkeit durch trockene Hitze betrifft, zwischen dem lebenden Hefeplasma und dem Invertin, welch letzteres, wie Versuche ergeben haben, der 1 Stunde auf 145° erhitzten Hefe noch in wirksamem Zustande entzogen werden kann.

H. Will (München).

**Buchner, E., Fortschritte in der Chemie der Gärung.**

Antrittsrede bei Uebnahme der außerordentlichen Professur für analytische und pharmazeutische Chemie an der Hochschule zu Tübingen. Tübingen (F. Pietzcker) 1897.

Verf. wirft einen geschichtlichen Rückblick auf die Ansichten über die Natur der Alkoholgärung und knüpft daran Mitteilungen über die kürzlich von ihm gemachten Versuche, welche die von Traube 1858 ausgesprochene und auch von Chemikern (Hoppe-Seyler) geteilte Ansicht zu bestätigen scheinen, daß eben Ursache

der alkoholischen Gärung ein besonderes Enzym sei, welches durch starken Druck aus der zerriebenen Hefenmasse ausgepreßt werden kann. Auf die Einzelheiten der an anderen Orten ausführlicher publizierten Versuche<sup>1)</sup> braucht hier wohl nicht eingegangen zu werden. Nach der, unserer bisherigen Anschauung widersprechenden, Ansicht des Verf.'s ist also Träger der Gärwirkung der Hefezellen eine als „Zymase“ bezeichnete, eiweißartige Substanz, die jedoch kein lebendes Plasma sein soll und vielleicht von den Zellen bei der Gärung nach außen abgeschieden wird. Von den bereits bekannten Enzymen unterscheidet sie sich jedoch mannigfach und wesentlich; für sich isoliert ist die Substanz bislang noch nicht.

Uebrigens zersetzt sich der gewonnene Preßsaft bereits bei ca. 40° unter Abscheidung geronnenen Eiweißes, verliert auch sonst seine Wirksamkeit sehr bald, so schon bei 5 tägigem Stehen im Eisschrank — bei Zimmertemperatur also vermutlich noch weit schneller. Das scheint immerhin eine Abgrenzung gegen lebendes Eiweiß schwer zuzulassen (denn daß lebendes Plasma nach Zertrümmerung der Zelle unter den gewählten Umständen in den Preßsaft gelangen und hier event. auch noch kurze Zeit Lebensäußerungen zeigen kann, darf wohl kaum bezweifelt werden), wie es denn ja auch schwierig ist, uns eine Vorstellung von der komplizierten (keineswegs bloß hydrolytischen) Wirkung dieses Stoffes zu machen. Ueberall dürften wohl nach dem Bisherigen noch so mancherlei Punkte unerledigt bleiben, daß ein abschließendes Urteil in dieser Sache zur Zeit kaum abgegeben werden kann; die dem Preßsaft für kurze Zeit eigentümliche Fähigkeit einer wenig ergiebigen — nach Angabe nicht durch Mikroorganismen (Bakterien) bewirkten — Zuckersersetzung reicht dazu noch nicht aus. Zutreffendenfalls wäre aber die Thatsache offenbar von besonderer Bedeutung.

Wehmer (Hannover).

**Artari, A.**, Ueber einen im Safte der Zuckerfabriken in Gemeinschaft mit *Leuconostoc* schädlich auftretenden, den Zucker zu Alkohol und Säure vergärenden *Saccharomyces* (S. Zopfii). (Abhandl. d. naturf. Ges. zu Halle. Bd. XXI. Mit 8 Textbildern.)

Die vom Verf. beschriebene und *Sacch. Zopfii* benannte Hefe ist von Zopf aus dem Safte einer Zuckerfabrik in Sachsen isoliert worden. Sie scheidet Invertin ab und gehört zu der Gruppe der sog. echten *Saccharomyceten*.

Die Zellen sind ungemein klein, nur 3—6  $\mu$  und gewöhnlich von elliptischer bis kugelige Gestalt. Unter gewissen Ernährungsbedingungen, so in Traubenzuckerlösung mit einem Zusatz von 5—8 Proz.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  treten nur kugelige Formen auf, wobei die Tochterzelle durch eine relativ breite Querwand von der Mutterzelle getrennt ist und erinnern dadurch an *Sacch. Ludwigii*, *Pombe* und *Octosporus*. Ein Zusatz von  $\text{KNO}_3$  ruft birnenförmige Gestalt hervor und erscheinen in den Zellen reichlich Fetttropfen.

1) Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1897.

Die Sporenbildung tritt nicht allein auf Gypsblöcken, sondern verhältnismäßig leicht auch in flüssigen und auch festen Nährböden auf. Besonders gut in einer Weinsäurelösung bei Gegenwart von  $\text{KNO}_3$ . Die günstigste Temperatur dafür ist  $26-29^\circ \text{C}$ .

Interessant ist die große Widerstandsfähigkeit der Hefe gegen trockene Wärme, indem sie eine Temperatur von  $130^\circ \text{C}$  5 Min. erträgt. Wichtiger jedoch für die Zuckerindustrie ist ihre große Widerstandsfähigkeit gegen feuchte Wärme, in der sie dem *Leuconostoc mesenteroides* nahe kommt ( $67^\circ \text{C}$  gegen  $87-88^\circ \text{C}$ ) und damit ihre Gefährlichkeit für diesen Betrieb dokumentiert. Diese Gefährlichkeit tritt noch deutlicher hervor, wenn man die Optima und Maxima der Wachstumstemperaturen beider Organismen vergleicht. So ist das Optimum für *Sacch. Zopfii*  $28-29^\circ$ , des *Leuconostoc*  $30-35^\circ$ , das Maximum  $33-34^\circ$  gegen  $40-43^\circ \text{C}$ .

Als günstigste Stickstoffquelle findet Verf. Ammoniaksalze.

Zur Deckung des Kohlenstoffbedarfes kommen von den Kohlehydraten und mehrwertigen Alkoholen besonders Dextrose, Saccharose und Mannit in Betracht, weniger gut eignet sich Dextrin und Glycerin, während Maltose, Galactose, Lactose, Inulin und Melampyrit keinen Nährwert besitzen.

Gärungserscheinungen ruft *Sacch. Zopfii* aber nur in Saccharoselösungen und zwar noch in Konzentrationen von über 50 Proz., in Dextrose- und in schwächerem Maße in Dextrinlösungen hervor. Als Gärungsprodukte konnte Verf. neben Alkohol und Kohlensäure auch eine Säure konstatieren, doch ist aus der Arbeit nicht ersichtlich, in welcher Menge dieselbe entsteht, noch ist ihre Natur näher untersucht worden. Da sich herausstellte, daß *Sacch. Zopfii* imstande ist, diese selbstgebildete Säure nachträglich aufzuzehren, prüfte Verf. auch eine ganze Reihe organischer Säuren auf ihren Nährwert hin. Als Resultat erhielt er, daß nur Citronen- und Weinsäure und in sehr schwachem Maße Apfel- und Milchsäure von der Hefe assimiliert werden können.

Acht Textbilder zeigen Kulturen der Hefe aus verschiedenen Nährmedien, sowie Sporenkulturen. Zeidler (Moskau).

**Baler, Ed., Die Pilzflora der Milch und ihre Beziehungen zum Käseereifungsprozeß.** (Milchzeitung. 1897. No. 12 u. 13.)

Beim Studium der verschiedenen Arbeiten über die Käseereifung zeigt sich, daß gegenüber den vielfachen Untersuchungen an den Käsen selbst und deren Reifungsstadien das verwandte Rohmaterial, nämlich die Milch, trotzdem sie die größte Wichtigkeit beansprucht, noch verhältnismäßig wenig eingehend untersucht worden ist. Da nun nach den praktischen Erfahrungen eine Reihe von Käsesorten in den meisten Ländern mit gutem Erfolge fabriziert wird, so drängt sich unwillkürlich die Frage auf, ob nicht die Käseereifungsvorgänge namentlich in Bezug auf die Zahl der daran teilnehmenden Mikroorganismen als einfacher anzusehen sind, als nach den bisherigen Untersuchungen erscheinen könnte, sowie ob nicht die Pilzflora der Milch im allgemeinen eine ziemlich konstante ist. Die Käsepilzflora ist nämlich infolge der von vielen Seiten und nach

den verschiedenartigsten Methoden betriebenen Untersuchungen zu einer Höhe angewachsen, daß es für jeden dieses Studiums Beflissenen sehr schwer ist, sich zu orientieren oder gar Vergleiche anzustellen. Die verschiedenen Kulturverfahren und die ebenfalls meist verschiedenen Ausgangsmaterialien (nur betreffs des Emmenthaler- und Cantalkäses sind eingehende bzw. zahlreiche Arbeiten vorhanden) und auch ebenso der Umstand, daß die meisten Bakterienarten zu knapp und ungleichmäßig behandelt und beschrieben sind, beeinflussen die Resultate ungünstig; es läßt sich zu wenig ein Zusammenhang der Arbeiten untereinander finden. Ferner mögen da, wo vermeintlich neue Arten von Mikroorganismen gefunden und beschrieben worden sind, keine solchen, sondern Spielarten derselben vorhanden gewesen sein.

Zur Klärung dieser Verhältnisse sollte das Studium der Pilzflora der Milch einen Beitrag liefern.

Auf dem Wege des Plattenverfahrens läßt sich nicht viel erreichen, wie schon öfters bewiesen worden ist. Es wurde deshalb neuerdings ein anderes Verfahren gewählt, nämlich „die gemischte Sterilisation“, d. h. der natürliche Nährboden Milch wird einer fraktionierten Desinfektion teils durch Zuhilfenahme von Chemikalien, teils mittels Wärmezufuhr unterworfen.

Das Verfahren ist sehr einfach; man giebt in sterile Kölbchen je 100 g der zu den Versuchszwecken bestimmten Milch und setzt denselben 0,2, 0,4, 0,6 etc. ccm Formaldehyd (40-proz.) und Karbolsäure, in einer Verdünnung von 1:100 zu. Bei diesen orientierenden Versuchen zeigte sich bald, daß nur ein Zusatz von 1 ccm 1-proz. Karbolsäure und 2 ccm von 1-proz. Formaldehydlösung einen besonderen Einfluß auf das Wachstum der Milchbakterien auszuüben vermochte. Die Wärme wurde in der Weise verwendet, daß mehrere Milchproben natürlich eben dieselbe Milch) bei gewöhnlicher Temperatur, dann bei 25° im Brutschrank sich selbst überlassen, wieder andere in den im Dampf befindlichen Dampfschrank je 5, 10 und 20 Minuten lang belassen wurden. Von diesen wurde hernach wieder der eine Teil der Zimmer-, der andere Teil der Bruttemperatur ausgesetzt.

Auf diese Weise wurde ein Anzahl Kölbchen erhalten, die nach kürzerer oder längerer Zeit äußerlich mannigfaltige Veränderungen und Erscheinungen zeigten und auch, namentlich in Bezug auf ihren Geruch und ihr bakteriologisches Verhalten sehr verschieden waren. Es war nicht der Zweck, auf diese Weise direkt zu Reinkulturen zu gelangen (denn dieses ist von vornherein nicht zu erwarten), sondern zu erfahren, welcherlei Bakterien im allgemeinen die Milch mit sich führt, und hauptsächlich auch die quantitativen Verhältnisse kennen zu lernen, in denen die Bakterien verschiedene Geruchsarten zu produzieren vermögen; ferner sollte dadurch auch eine Isolierung der einzelnen Arten leichter möglich gemacht werden. Im ganzen waren es ca. 15 Doppelkölbchen; von diesen erwies sich wiederum die Hälfte ungefähr als zwei- bis mehrfacher Vertreter der zuletzt noch übrig gebliebenen und untereinander verschiedenen 8 Doppelkölbchen, die eine Art Geruchsskala bildeten. Dieselben sind nun

betr. ihres bakteriellen Inhaltes weiter untersucht und der Zimmer- bzw. Bruttemperatur noch längere Zeit ausgesetzt worden. Mehr oder weniger bald traten die bekannten Gärungserscheinungen auf, sobald irgend eine Veränderung wahrnehmbar war, wurde mittels Deckglaspräparaten etc. der Kolbeninhalt näher untersucht. Sämtliche Kolben wurden natürlich sehr häufig einer gründlichen Beobachtung unterzogen und von Zeit zu Zeit wieder mittels des Mikroskopes die Bakterienflora der betr. Probe auf die vertretenen Arten und ihre Verhältnisse zu einander geprüft. Dies wurde solange fortgesetzt, bis eine bestimmte Art völlig die Oberhand gewonnen hatte.

Die Ergebnisse und Beobachtungen dieser Versuche wurden in Tabellen angeordnet. In denselben sind die Veränderungen von 8 nach dem Verfahren der gemischten Sterilisation behandelten Proben zusammengestellt, welche die ohne Zweifel charakteristischsten Fraktionen einer größeren Serie von einer Versuchsmilch bilden. Bei der späteren zweimaligen Wiederholung wurden nur diese 8 Versuche direkt ausgeführt.

Bei allen 3 Versuchen wurden stets dieselben Beobachtungen gemacht, der wichtigste Befund war aber der, daß die einzelnen Proben der 3 Versuche unter sich äußerlich wie auch in Bezug auf den Bakterieninhalt gleich waren.

Im nachstehenden sind alle gefundenen Bakterien bzw. Pilze aufgezählt. Die Reinzüchtung derselben geschah mittels den allgemein üblichen Hilfsmitteln und Nährböden teils auf aerobem, teils anaërobem Wege.

Gefunden wurden folgende Pilzarten:

- 1) Milchsäurekokken und Kurzstäbchen,
- 2) Kurze Bakterien mit starker Gaserzeugung,
- 3) Aërobe Bakterie (fakultativ anaërob),
- 4) Anaërobe Bakterie (Clostrid. foet. lactis bzw. Coliart),
- 5) Anaërobe peptonisierende Bakterie mit kräftiger Buttersäurebildung (Clostridium form),
- 6) Oidium lactis,
- 7) Monilia (candida),
- 8) Penicillium, } unwesentlich.
- 9) Mucor, }

Uebereinstimmend mit den Resultaten Weigmann's, die derselbe bei einem Schlempefütterungsversuche mit 2 Kühen erhalten hat, scheint es also, daß nicht jede Pilz- oder Bakterienart, die etwa durch die Streu, das Futter oder den Kot einer Milch in größerer Menge zugeführt werden kann, die Veranlassung zu einer gravierenden Veränderung der bakteriologischen Zusammensetzung der Milch wird, denn die Milch wird sich manchen Arten gegenüber sozusagen „antiseptisch“ wirkend verhalten, so daß der Hauptsache nach in den meisten Fällen nur die eigentlichen Milchbakterien zum Wachstum zu gelangen vermögen.

Die Versuche sind mit Wintermilch angestellt worden; ob nun die Grünfütterung und der Weidegang die Milchflora bedeutend zu beeinflussen vermögen, ist fraglich, wenn auch die Möglichkeit zu-

gegeben werden muß, daß durch meteorologische Einflüsse besonders Temperaturunterschiede, Abwechslung von Feuchtigkeit und Trockenheit etc. manche Arten von Milchbewohnern in ihrem Wachstum hervorragend begünstigt werden, wie auch diese die Veranlassung zu Milch- bzw. Käsefehlern werden können. Der Uebergang von der Trocken- zur Grünfütterung ist wohl schon häufig betreffs der Qualität der Milch und des Milchfettes (letzteres namentlich bezüglich des Aromas und der Bearbeitungsfähigkeit) von den Praktikern angenehm und unangenehm empfunden und auch einer eventuellen bakteriologischen Veränderung der Milch die Veranlassung bezw. Schuld zugemessen worden. Ob dies zutrifft, ist noch nicht erwiesen; es erscheint vielmehr sehr wahrscheinlich, daß die Milchdrüse der Kuh der Ueberträger von aromatischen und anderen chemischen Stoffen ist, welche den Tierkörper bei Aufnahme gewisser Futtermittel passieren und der Milch ein anderes Verhalten geben. Bei Arzneistoffen, Metallsalzen etc. ist dies auch mehrfach konstatiert worden.

Die Reifungsvorgänge der einzelnen Käsesorten sind nicht als die Produkte der Thätigkeit von „einzelnen“ und noch weniger von „zufälligen“ Lebewesen anzusehen, sondern das Aroma und der Käsecharakter werden dadurch erzeugt werden, daß die Milchbakterien in besonderen Wachstumsverhältnissen und biologischen Zuständen (Symbiose, Metabiose etc.) in Aktion treten und Produkte erzeugen, die chemisch wieder aufeinander einzuwirken vermögen und neue Stoffe erzeugen oder auch nur in variablen Mengenverhältnissen vorhanden sind. Daß dies sich so verhält, ist deshalb anzunehmen, weil sämtliche gefundenen Arten für sich allein nicht imstande waren, in der Milch eigentlich ausgesprochene Käsearomas zu produzieren, während durch künstliche Symbiose (15 Mischungen) der gefundenen Bakterienarten eine stark variierende Aromaproduktion erzielt wurde. Ein Zusammenwirken bestimmter durch den Fabrikationsakt begünstigten Arten muß also wohl dem Käse erst seinen Charakter verleihen. Einzelne durch besondere Verhältnisse in einer Milch kräftig entwickelte Arten werden jedoch die Qualität des Käses vermindern oder Käsefehler erzeugen. Von ausgesprochenen Aromabildern kann demnach nur insofern die Rede sein, als gewisse Bedingungen zur Erzeugung des Aromas erfüllt sind, während zufällig anwesende Arten sicher für die Käserei gänzlich bedeutungslos sind. Diese Verhältnisse können natürlich nur auf den allgemeinen Käsereifungsvorgang Anwendung finden, denn dafür, daß die Oertlichkeit „Varietäten“ der Milchbakterien hervorbringt, spricht der Umstand, daß Qualitätsunterschiede unter den Käsesorten, z. B. zwischen Algäuer- und ostpreussischem Emmenthalerkäse etc., bestehen.

Eine sichere Kenntnis der eigentlichen Mitbewohner sind naturgemäß die Voraussetzung für ein weiteres Studium der Funktionen, die den einzelnen Pilzarten, z. B. den Milchsäure- und peptonisierenden Bakterien etc., zukommen. Wenn diese Beobachtungen, daß der Milch eine gewisse örtliche Konstanz in bakterieller Hinsicht eigen ist, durch weitere Versuche Bestätigung finden, so würde vielleicht der Käsereifungsprozeß im allgemeinen als das Produkt der in der

Milch vorhandenen (schlummernden) Energie, nämlich der Mikroorganismen, und der zugeführten Energie, der Fabrikationsweise (insbesondere der Temperatur beim Laben, Nachwärmen u. s. w.) anzusehen sein. Selbstreferat.

**Martiny, B.**, Versuche zur Ergründung der wirksamen Bestandteile der langen Wei. (Nach einem Bericht des Nederlandsch Landbouw Weaklad. Amsterdam 1896. Milchzeitung. 1897. No. 3.)

Ueber die Wirkung der schleimig fadenziehenden Molke „Lange Wei“, die bei der Fabrikation von Edamer Käse benutzt wird, war bisher so viel wie nichts bekannt. Auf Veranlassung der „Vereeniging tot Ontwikkeling van den Landbouw in Hollands Norderkwartier“ wurde deshalb eine Reihe von Versuchen ausgeführt, durch die hauptsächlich ermittelt werden sollte, ob der Einfluß, den gewöhnliche säuerliche Molke („Portel“) oder schleimige säuerliche Molke („Lange Wei“) oder dergl. der Milch zugesetzt, auf die Beschaffenheit der Käse ausüben, den darin vorhandenen Bakterien oder der darin enthaltenen Milchsäure zuzuschreiben sei. Durch diese Versuche wurde nun festgestellt, daß der Einfluß, den Zusätze von gewöhnlicher säuerlicher Molke oder von langer säuerlicher Molke auf die Beschaffenheit von Edamer Käse ausüben, nicht der in diesen Zusätzen enthaltenen Milchsäure zuzuschreiben ist. Als Vorzug der langen gegenüber der gewöhnlichen Molke hat sich nach dem Verf. bei diesen Versuchen der Umstand herausgestellt, daß eine etwaige schlechte Beschaffenheit der langen Molke sich sofort in der verminderten Schleimigkeit zu erkennen giebt, während bei gewöhnlicher Molke dies äußerlich nicht wahrnehmbar ist. Bei gleich guter Beschaffenheit beider Molken ist die Wirkung auch die gleiche, nämlich die, daß die Käse leichter abtrocknen und schneller reifen und vor Blähung geschützt sind, während die Fettigkeit, Geruch und Geschmack der Käse unter den Molkenzusätzen zu leiden scheinen. Baier (Berlin).

**Sopitt, H., T.**, Bemerkungen über *Puccinia Digraphidis* Sopitt. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. VII. 1897. p. 8.)

Klebahn hat in einer Reihe von Versuchen mit einer *Puccinia* auf *Phalaris arundinacea*, die er für *P. Digraphidis* hielt, Resultate bekommen, welche von den früheren Versuchen Verf.'s etwas abwichen, infolgedessen er den Wunsch aussprach, daß Verf. seine Versuche wiederholen möchte. Verf. hat dies gethan und in dem englischen Seendistrikt (Westmoreland), wo die *Puccinia* zuerst gefunden wurde, eine reichliche Menge teleudosporentragender Blätter von *Phalaris arundinacea* eingesammelt. Die Teleudosporen waren Mitte April in reichlicher Keimung begriffen und wurden auf folgende kräftig entwickelte Pflanzen gebracht: *Polygonatum multiflorum* all, *Convallaria majalis* L., *Majanthemum trifolium* Schmidt und *Allium ursinum* L. Diese Versuche haben die früheren Beobachtungen bestätigt, daß *Puccinia Digraphidis* Sop. ihre Aecidien auf *Convallaria majalis* und nicht auf *Polygonatum* bildet. Stift (Wien).

**Sorauer, Paul,** Feldversuche zwecks Feststellung einer Abhängigkeit der bakteriösen Gummosis der Zuckerrüben von Witterungs- und Bodeneinflüssen. (Blätter für Zuckerrübenbau. Bd. IV. 1897. p. 81.)

Frühere Versuche haben bewiesen, daß die Krankheit mit dem Einfluß gewisser Bakterien in Beziehung zu bringen ist und bestanden die Versuche in den Jahren 1894 bis 1896 einerseits in der Impfung gesunder Rüben durch Einführung von Bakterienkulturen an verschiedenen Stellen des Rübenkörpers, andererseits in der Kultur von Zuckerrüben gleicher Abkunft im freien Lande an verschiedenen Oertlichkeiten. Die Impfversuche Verf.'s haben bis jetzt keinen positiven Erfolg mit Sicherheit ergeben, wohl ist es aber Busse gelungen, durch Einführung der Bakterien in gesunde Rüben die Krankheit zu erzeugen. Busse hat aber mit schwächlichen Exemplaren experimentiert, während Verf. kräftiges Material benutzte. Dagegen haben aber Sorauer's Feldversuche einige Resultate ergeben, welche zur Vermeidung der Krankheit im praktischen Betriebe als Fingerzeig dienen können. Die Rüben wurden hierbei durch Ueberdüngung krank gemacht und zwar durch übermäßige Gaben von Chilisalpeter, Kalk und schwefelsaures Ammoniak. Aus den Versuchen ergibt sich nun, daß die Zuckerrüben ohne Gefahr einer gummosen Erkrankung ungemein große Mengen stickstoffreichen Düngers vertragen können, wenn sie reichlich Wasser während ihrer Vegetationsperiode erhalten, daß aber diese überreichen Stickstoffmengen die bakteriöse Gummosis wesentlich begünstigen, wenn eine längere, heiße Trockenperiode das Wachstum der Rüben herabdrückt. Als ein die Ausbreitung der Krankheit hemmendes Mittel ist die Phosphorsäurezufuhr anzusehen. Bewässerungsanlagen für die Rübenfelder dürften also vielleicht den besten Schutz gegen bakteriöse Gummosis und auch gegen manche andere Krankheit bilden.

Stift (Wien).

**Hollrung, Max,** Achter Jahresbericht über die Thätigkeit der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz zu Halle a. S. Bemerkungen über die im Jahre 1896 in der Provinz Sachsen wahrgenommenen Pflanzenkrankheiten.

I. Die Zuckerrübe. Entsprechend den Witterungsverhältnissen haben die Rübenfelder Mecklenburgs, Pommerns und Preußens im allgemeinen mehr unter Krankheitsschäden zu leiden gehabt als jene Mitteldeutschlands. Besonders bemerkbar haben sich gemacht: Drahtwurm, Engerling, Aaskäfer, Rübenkäfer, Schildkäfer, Saateulenraupen, Rüben nematoden, falscher Mehltau der Rübe, Rotfäule, Rübenschorf, Wurzelbrand und Wurzelkropf. (Des Näheren wurde bereits auf diese Schädiger seinerzeit an dieser Stelle eingegangen.)

II. Kartoffeln, Cichorien, Kohlgewächse. Die Kartoffel hat nicht unwesentlich gelitten. Der Mehltau, *Phytophthora infestans* de By., trat namentlich auf schwerem Boden ziemlich stark auf, während die leichteren sandigen Böden fast vollständig



verschont blieben. Zur Bekämpfung ist leider ein Versuch im Großen durch Aufspritzen von Kupferkalkbrühe nicht zur Durchführung gelangt. Eine beständige Kalamität bildet die Schorfigkeit der Kartoffeln und bildet jedenfalls der Boden, sei es als solcher, sei es als Träger eines bestimmten Infektionsstoffes, einen Hauptfaktor bei der Bildung des Kartoffelschorfes. Versuche haben gezeigt, daß aus den mit Aetzsublimatlösung behandelten Saatknohlen Kartoffeln gewonnen wurden, welche frei von den Pocken, *Rhizoctonia solani* Kühn, waren. Beschädigungen der Saatknohlen wurden auch durch die Maden der Monatfliege (*Eumerus lunulatus*) hervorgerufen. Bei anderen erkrankten Kartoffeln konnten tierische Schädiger und höhere Pilzorganismen nicht aufgefunden werden.

Ein im allgemeinen seltener Schädiger, der Schlankrüßler (*Tanymecus palliatus*), trat Mitte Mai unter Cichorienfeldern auf und zerstörte insbesondere das Blatt. Der Käfer findet sich auch auf Birnen-, Wein-, Mispel-, Buchen- und Wallnußblättern und ist daher Vorsicht notwendig. Die Cichorien hatten auch stark durch den Drahtwurm zu leiden.

Nicht unerheblichen Schaden richtete an Wrucken die Kohl- oder Gemüsewanze (*Strachia oleracea* L.) an. Als Gegenmittel können nur Kontaktgifte in Anwendung kommen und dürfte neben Insektenspulver als Dunst oder als Auszug besonders Petroleumbrühe erfolgreich zu verwenden sein.

Die Kohlgewächse haben auch von dem Befall der Kohlblattlaus (*Aphis brassicae* L.) zu leiden gehabt und wurde derselben durch eine Brühe von Quassiaholzspänen mit Schmierseifenlösung erfolgreich entgegengewirkt. Nächste der Kopfblattlaus hat der Kohlkropf, auch Kohlhernie genannt, Anlaß zu mehrfachen Klagen gegeben. Als sichere Ursache dieser Krankheit kann die Einwirkung eines Schleimpilzes, *Plasmodiophora brassicae* Wor. angesehen werden. Der Krankheit muß radikal durch Vernichtung aller infizierten Pflanzen entgegengearbeitet werden. Herbstrüben zeigten sich stark vom Kohlgallenrüssler (*Ceutorhynchus assimilis* Payk.) befallen und die Rapsfelder wurden durch Erdflöhe (*Halitaca nemorum* L., *H. oleracea* L.) und einem Pilz *Sporidesmium exitiosum* Kühn (sog. Rapsverderber) heimgesucht. Ganze Kohlfelder erkrankten auch durch Befall mit Rübennematoden und ist der forcierte Kohlbau für diese unliebsame Erscheinung verantwortlich zu machen. Die Spargelkulturen litten durch den Pinselschimmel (*Penicillium glaucum* Lk.) und durch die Larven und Käfer des sog. Spargelhähnchens (*Lemna 12-punctata* L. und *L. asparagi* L.), auf Spinat wurde der falsche Mehltau (*Peronospora effusa* de By.) und auf Gurkenpflanzungen der Mehltau (*Sphaerotheca castagnei* Lev.) beobachtet.

III. Die Halmfrüchte. Besonders schädigend ist die Fritfliege aufgetreten und waren manche Getreidefelder vollständig verseucht. Unter den übrigen tierischen Schädigern des Getreides sind die folgenden besonders hervorgetreten: Drahtwurm, Getreidelaufkäfer (*Zabrus gibbus* Fabr.), Getreidehalmwespe (*Cephus pygmaeus* L.), Getreidehalmfliege (*Chlorops taeniopus* Meig),

Zweigeicade (*Jassus sexnotatus* Fabr.) und die Nematode (*Heterodera Schachtii* Schmidt).

Der Flugbrand trat nur schwach auf. Zur Bekämpfung giebt es bis jetzt folgende 5 Mittel, welche Anspruch machen, preiswürdige und leicht zu handhabende zu sein: Die alte, von Kühn etwas abgeänderte Kupfervitriolbeize mit Kalknachspülung, die Warmwassermethode, die Schwefelkaliumbeize, das Cerespulver und eine von Wägener empfohlene Saatbeize. Ob aber alle diese Mittel Erfolg haben, ist noch nicht entschieden.

Weiter beobachtete Pilzkrankheiten sind: der Roggenstengelbrand (*Urocystes occulta*), das Mutterkorn (*Claviceps purpurea*) und der Stinkbrand (*Tilletia caries*).

IV. Leguminosen. Luzerne wurde in umfangreichem Maße vom Lappenrüssler (*Otiorhynchus ligustici* L.) befallen, welcher wohl genug Feinde aus dem Tierreiche (Saatkrähe, Laufkäfer und Stutzkäfer) besitzt, aber unbedingt durch künstliche Mittel bekämpft werden muß. Weiter wurde das Auftreten von *Sitones lineatus* L., *Aphis spec.* und *Tylenchus devastatrix* Kühn beobachtet.

Unter Erbsen und Bohnen trat eine Krankheit auf, welche anfänglich Aehnlichkeit mit dem Wurzelbrand der Zuckerrüben hatte.

V. Obstgewächse. Die beobachteten Schädiger waren: der Rapsglanzkäfer (*Meligethes aeneus* Fabr.) auf Aprikosen, Weinstockfallkäfer (*Eumolpus vitis* Fabr.) auf Weinstöcken, die Raupe der Gespinnstmotte (*Hyponomeuta spec.*), die Schwammspinnersraupe (*Ocnieria dispar* L.), die Blutlaus (*Schizoneura lanigera* Hausm.), die Blattmilbe (*Phytoptus*). Von Pilzen wurden beobachtet: *Exoascus deformans* Fuck, *Cercospora persica* Sacc. und *Gloeosporium*, *Oidium fructigenum*, *Polystigma rubrum* Tul., *Hydnum Schiedermayeri* Heuß., *Peronospora viticola* de By und *Sphaceloma ampelinum* de By.

VI. Forstgewächse. Vielfach verbreitet ist die gemeine Kiefernblattwespe (*Lophyrus pini* L.), ohne daß derselben die gebührende Beachtung geschenkt wird; ferner der kleine Ulmen- oder Rüsterspintkäfer (*Eccoptogaster multistriatus* Marsh.).

Die Versuche zur Bekämpfung des Schorfes (*Grindes*) der Kartoffeln vermittelt einer Beizung der Saatknochen wurden mit dem Bolley'schen Mittel durchgeführt und besteht dasselbe daraus, die Kartoffeln durch 90 Min. langes Eintauchen in eine 1-proz. Aetzsublimatlösung von den Schorferregern zu befreien. Die durchgeführten Versuche, welche 1897 fortgesetzt wurden, haben wohl in Bezug auf die Frage, ob die Bolley'sche Kartoffelbeize wirksam ist, keine Entscheidung erbracht, jedoch das interessante Ergebnis gebracht, daß die *Rhizoeonia solani*, die Kartoffelpocke, ganz oder doch nahezu vollständig beseitigt werden kann, ein Resultat, welches für die Landwirte nicht ohne Bedeutung ist.

Die Untersuchungen über den Mageninhalt der Saatkrähe (*Corvus frugilegus* L.) wurden weiter fortgesetzt und kamen 193 Krähen zur Untersuchung. Damit sollte die Frage weiter studiert werden, inwieweit man die Saatkrähe als nützlich,

bezw. schädlich für die Landwirte zu betrachten hat. Ueber das Endresultat spricht sich Verf. noch nicht aus, und sollen die Versuche fortgesetzt werden, wobei man für die Beurteilung der Krähenfrage nicht nur die lokalen Verhältnisse, sondern auch das verschiedene Verhalten der Krähen je nach der Jahreszeit mehr als bisher mit in Rücksicht wird ziehen müssen.      Stift (Wien).

**Schlemenz, P.,** Zur Tipulidenplage. (Deutsche landwirtschaftliche Presse. 1897. Bd. XXIV. p. 319.)

An der Zerstörung der angesäten Wiesen in Großbeeren waren, wie Verf. früher mitgeteilt hat, zwei Arten von Tipulidenlarven beteiligt, nämlich *Tipula maculosa* und *T. paludosa*, von welchen die letztere entschieden die schädlichere war. Die Larven sind sehr gefräßig (durch Abnagen oberirdischer Pflanzenteile, die sie in ihre Löcher ziehen), greifen jedoch auch Larven und Puppen ihrer eigenen Art und was sonst in den Weg kommt, an. Die Bekämpfungsmaßregeln müssen sich also gegen diese Larven wenden. Das von England aus empfohlene Walzen des Bodens zur Nachtzeit verspricht keinen dauernden und gründlichen Vorteil, nachdem die Larven nur in geringerer Menge nachts an die Oberfläche kommen. Von großem Vorteil für die Vernichtung sind aber die Vögel und zwar die Krähen, Staare und Kibitze. Uebersaus nützlich ist das Huhn, welches durch einen fahrbaren Hühnerstall auf den Acker gebracht werden soll und die Tipulidenlarven gern verspeist. Daneben müßten Körner und Wasser mitgenommen werden. Verf. fürchtet aber, daß dieser Vorschlag nutzlos sein wird, nachdem auch die Landwirte im allgemeinen sich um die Hühner nicht viel kümmern wollen. Verf. empfiehlt daher den Puppen an den Leib zu gehen. Dieselben liegen ganz dicht unter der Oberfläche, sodaß sie nicht viel Mühe haben, sich über die Oberfläche emporzuarbeiten. Kommen sie tiefer zu liegen, so sind sie nicht imstande, sich emporzuarbeiten und gehen zu Grunde. Es empfiehlt sich daher ein einigermaßen tiefes Umpflügen zur Vernichtung der Larven, wodurch die nächste Generation so ziemlich vernichtet wäre. Die Anwendung von ätzenden Chemikalien hält Verf. für ziemlich nutzlos, doch könnte man den Larven durch Einwirkung auf die Atmungsorgane auf den Leib gehen. Durch Ueberschwemmen der Aecker hat man ein vollkommenes Hilfsmittel, doch ist dasselbe nicht überall durchführbar. Verf. hat die Wirkung stark riechender Stoffe versucht, aber nur Erfolge mit Karbolsäure und Schwefelkohlenstoff erzielt. Ersteres Mittel empfiehlt sich aber nicht, weil es den Acker für eine Zeit lang unbestellbar macht, während nach Schwefelkohlenstoff der Acker sofort wieder bestellt werden kann. Die Behandlung des Ackers mit reinem Schwefelkohlenstoff wäre allerdings sehr kostspielig, doch genügt es vollkommen, Schwefelkohlenstoff tüchtig mit Wasser zu schütteln und die geringere in Wasser gelöste Menge zu verwenden. In dieser Richtung hin angestellte Laboratoriumsversuche haben ein günstiges Resultat ergeben. Die Konstruktion eines geräumigen fahrbaren Apparates würde viel Geld kosten und empfiehlt sich daher nicht, während hingegen eine einfache Gießkanne, nach den Angaben des Verf.'s

konstruiert, Aussicht auf Verbreitung hat. Diese Gießkanne ist derartig konstruiert, daß man den Schwefelkohlenstoff mit Wasser umschütteln kann und beim Gebrauch nur das mit Schwefelkohlenstoff imprägnierte Wasser ausstreut, während der überschüssige Schwefelkohlenstoff zumeist erhalten wird. Ist die Kanne ausgegossen, so füllt man sie aufs neue mit Wasser, ohne daß man den Schwefelkohlenstoff auch in der Folge zu erneuern braucht. Zu einer derartigen Behandlung des Bodens sind die Kosten ganz unerhebliche. Notwendig dabei ist nur, daß das Erdreich gehörig gelockert ist und das Wasser sofort annimmt, d. h. den gehörigen Feuchtigkeitsgrad besitzt. Die Arbeit mit der Gießkanne ist allerdings langweilig und kostet infolge der notwendigen Arbeitskräfte Geld, doch ist man bezüglich der *Tipula paludosa*, wenn man nicht die Aecker überschwemmen kann oder sich der Hühner als Bundesgenossen bedienen will, vor die Alternative gestellt, entweder auf die Bestellung des Ackers bis Ende August zu verzichten oder die Arbeitskosten für die Behandlung mit Schwefelkohlenstoff daran zu wenden.

Stift (Wien).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Peglion, V.**, Ueber die Behandlung der Reben behufs Bekämpfung der *Peronospora viticola*. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1896. H 1. p. 44. Dasselbst nach: Rivista di Patologia vegetale. Vol. IV. p. 67 ff. Firenze 1895.)

Versuche ergaben, daß die Rebenblätter solange immun bleiben, als sie eine im Regen- oder Tauwasser lösliche Kupferverbindung an der Oberfläche tragen. Die von den Blattzellen selbst absorbierte Kupfermenge ist nicht imstande, das Blatt gegen das Eindringen des Mycels der *Peronospora* zu sichern. Moritz (Berlin).

**Nérard, J. B.**, Ueber die Wirkung von Kupferlösung gegen *Peronospora* und Blackrot. (La vigne américaine. 1896. No. 7. p. 214 ff.)

Die Kupferlösung soll ausschließlich dadurch wirken, daß sie das Auskeimen der Sporen an der Oberfläche der betreffenden Rebenteile hindert. Moritz (Berlin).

**Dufour, J.**, Ueber „Mildiol“. (Nach: Chronique agricole du Canton de Vaud. 1895. 25. Déc.)

Mildiol, ein von Courvoisier in den Handel gebrachtes Teerprodukt, erwies sich gegen die *Peronospora viticola* wirkungslos. Moritz (Berlin).

**Die Bekämpfung der Gelbsucht der Reben auf Kalkböden nach dem Verfahren von Rassiguier.** (Die Weinlaube. 1896. No. 31. p. 361.)

Dieselbe besteht im wesentlichen darin, daß man nach dem Schneiden der Reben die frische Schnittfläche mit einer 50-proz. Eisenvitriollösung bestreicht. Moritz (Berlin).

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Haefke, Ueber Bakteriologie und Landwirtschaft. (Illustr. landwirtsch. Ztg. 1897. No. 28. p. 235—236.)

Lemoyne, P., Pasteur. 8°. 238 p. Avec grav. Abbeville (Paillart) 1897.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Kasperek, Th., Ein Vacuumapparat zum Abdampfen von Kulturen mit Ehmann'scher Wasserheizung. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 1. p. 6—7.)

Marpmann, G., Bakteriologische Mitteilungen. I. Ueber einen neuen Nährboden für Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 5. p. 122—124.)

Schardinger, Fr., Protozoenkulturen. Nachtrag. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 1. p. 3—5.)

Smith, Th., Ueber Fehlerquellen bei Prüfung der Gas- und Säurebildung bei Bakterien und deren Vermeidung. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 2/3. p. 45—49.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

Banks, E. R., *Tinea cochylidella* Stn., an aberration of *T. ruricolella*, Stn. (Entomol. monthly mag. 1897. No. 4. p. 79—80.)

Beyerinck, M. W., Sur la cécidiogénèse et la génération alternante chez le *Cynips calicis*. Observations sur la galle de l'*Andricus circulaeus*. (Extr. d. Arch. néerland. T. XXX. 1897. p. 387—444.)

Boulanger, E., Sur le polymorphisme du genre *Sporotrichum*. (Rev. mycol. 1897. No. 74. p. 37—45.)

Bubák, F., Ein Beitrag zur Kenntnis der böhmischen Peronosporaceen, Ustilagineen und Uredineen. (Verhandl. d. k. k. zoolog.-bot. Ges. in Wien.) 8°. 9 p. Wien 1897.

Camerano, L., Nuova classificazione dei Gordii. (Zool. Anzeiger. 1897. No. 535. p. 225—229.)

Casali, C., Diagnosi di nuovi micromiceti. (Malpighia. 1897. No. 1—3. p. 85—89.)

Chodat, R., Expériences relatives à l'action des basses températures sur *Mucor mucedo*. (Bullet. de l'Herb. Boiss. 1896. p. 890.)

Curoi, V., Estudio sobre un nuevo fermento butyrico. (Anal. d. Museo nacion. de Montevideo. 1896. p. 1.)

Diamare, V., Die Genera *Amabilis* und *Diploposthe*. Nachtrag. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 4. p. 98—99.)

Focken, Sur quelques cécidies orientales. (Rev. génér. de botanique. 1897. No. 98.)

- Hansen, E. Ch.**, Biologische Untersuchungen über Mist bewohnende Pilze. [Die aklerotienbildenden Coprini, Anxiopsis stercoraria]. (Botan. Ztg. I. Abt. Originalbehandl. 1897. Heft 7., p. 111—131.)
- Harvey, F. L.**, Contribution to the Gasteromycetes of Maine. (Bulet. of the Torrey botan. club. 1897. No. 2. p. 71—74.)
- Klöcker, et Schönning**, Origine de la levure. (Gaz. du brasseur. 1897. No. 491.)
- Kruis, K.**, Ueber die Accommodation der Mikroben in der Industrie. (Listy chem. 1897. No. 21. p. 77.) [Böhmisch.]
- Léger, L.**, Le cycle évolutif des coccidies chez les arthropodes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 15. p. 382—385.)
- Lister, A.**, Notes on some rare species of mycetozoa. (Journ. of botany. 1897. June. p. 209—218.)
- Marpmann, G.**, Bakteriologische Mittheilungen. II. Ueber ferrophile Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 5. p. 124—127.)
- Metchnikoff, E.**, Sur l'influence des végétaux inférieurs sur les toxines. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 22. p. 592—593.)
- —, Sur le stade flagellé des coccidies. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 22. p. 593—594.)
- Michel, A.**, De la formation de l'anus dans la régénération caudale chez les annélides. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 25. p. 681—683.)
- Migula, W.**, System der Bakterien. Handbuch der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Bakterien. Bd. I. Allgemeiner Teil. Mit 6 Taf. gr. 8°. VIII, 368 p. 6 Bl. Erklär. Jena (Fischer) 1897. 12 M.
- Monier, M.**, Recherches sur la fermentation alcoolique. (Gaz. méd. de Liège. 1897. No. 37.)
- Müller, De l'emploi des levures pures.** (Arch. d. scienc. phys. et nat. 1896. No. 12.)
- Peckham, A. W.**, The influence of environment upon the biological processes of the various members of the Colon group of bacilli; an experimental study. (Science. N. S. Vol. V. No. 130. p. 981—985.)
- Purievitch, K.**, Sur la destruction de l'amygdaline et de l'hélicine par les moisissures. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 25. p. 686—687.)
- Ray, J.**, Variations des champignons inférieurs sous l'influence du milieu. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. No. 3. p. 193—194.)
- Seifert, W.**, Ueber den Ursprung der Hefe. Geschichtliche Darstellung der Hefefrage. (Weinlaube. 1897. No. 18—20. p. 206—210, 217—221, 231—234.)
- Simond, P. L.**, L'évolution des sporozoaires du genre coccidium. (Annal. de l'Institut Pasteur. 1897. No. 7. p. 545—581.)
- Stossich, Genus ascaris.** (Boll. d. soc. adriat. d. sc. natur. Trieste. 1896. p. 9—120.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Boden.

- Miquel, P.**, Sur la longévité des germes des bactéries dans les poussières et dans le sol. (Annal. de microgr. 1897. No. 6. p. 251—259.)

### Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Leprie, E.**, L'emploi des microbes dans la culture de fourrages. (Rev. génér. agronom. 1897. No. 3.)

### Fleisch.

- Trampe, A.**, Einführung einer allgemeinen Fleischschau. (Wirtschaftspol. Blätter, Beil. s. Illustr. landwirtsch. Ztg. 1897. No. 26. p. 101—102.)

### Milch, Molkerei.

- Petri, Bemerkungen über die Arbeit des Herrn Dr. Obermüller:** „Ueber Tuberkelbacillenbefunde in der Marktbutter“. (Hygien. Rundschau. 1897. No. 16. p. 811.)
- Bemerkungen zu der vorstehenden Notiz von K. Obermüller.** (Ibid. p. 812—818.)
- Rabinowitsch, L.**, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Dtsche med. Wchschr. 1897. No. 32. p. 507.)

**Bier, Brauerei.**

- Cerny, F.**, Die Wirkung des Malzmehls auf die Hauptgärung und den Vergärungsgrad. (Oesterr. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1897. No. 119. — Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1897. No. 21. p. 279—282.)
- Steuber, L.**, Wirkt die in der Brauereipraxis zur Reinigung der Rohrleitung etc. verwendete SodaaLösung gegenüber Hefe als Desinfektionsmittel? (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1897. No. 19. p. 253—255.)

**Wein, Weinbereitung.**

- Caseneuve, P.**, Sur le ferment soluble oxydant de la casse des vins. (Bulet. de la soc. chim. de Paris. 1897. No. 10. p. 529—535.)
- Dualou, G.**, Amélioration de la fermentation et du vin obtenu par l'emploi de raisins-ferments. (Rev. de viticulture. 1897. No. 177. p. 534—535.)
- Gouirand, G.**, Encore la casse des vins. (Rev. de viticult. 1897. No. 175. p. 479—480.)
- Kayser, E.**, Le chauffage des mouts. (Rev. de viticult. 1897. No. 178. p. 553—556.)
- Kayser, E. et Barba, G.**, Contribution à l'étude des levures de vin. (Rev. de viticult. 1897. No. 174—176. p. 436—442, 470—473, 500—503.)
- Laborde, J.**, De la glycérine dans les vins provenant de raisins atteints de pourriture noble. (Rev. de viticult. 1897. No. 177. p. 524—527.)
- Meincke, E. O.**, Ueber Temperaturregulierung bei der Weingärung. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 15, 16. p. 129, 139.)
- Müller, H.**, Ueber das Zusammenwirken verschiedener Heferassen bei der Weingärung. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 17, 18. p. 143—144, 161—162.)

**Andere Nahrungs- und Genussmittel.**

- Beauregard, H.**, Note préliminaire sur l'examen bactériologique de l'ambre gris. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 26. p. 735—738.)
- Conrad, E.**, Bakteriologische und chemische Studien über Sauerkrautgärung. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1897. No. 23, 24. p. 188, 200—201.)

**Wohnungen, Abfallstoffe etc.**

- Hittier, H.**, Le fumier et les bactéries dénitrifiantes. (Journ. de la soc. agricole du Brabant-Hainaut. 1897. No. 9.)

**Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.****Harmlose Bakterien und Parasiten.**

- Meyer, W.**, Zur Bodenimpfung mit Bakterien für Leguminosen. (Ztschr. f. öffentl. Gesundheitspf. (Weimar). 1897. Heft 14. p. 256—258.)
- Sigismund, R.**, Die Lehre von den Bakterien im Dienst der Landwirtschaft. (Gesundheit. 1897. No. 9. p. 134—136.)

**Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.**

- Baker, C. F.**, Some other insect pests. (Alabama agricult. exper. stat. of the agricult. and mechan. coll., Auburn. Bull. 1897. No. 77. p. 31—34.)
- Belehrung über die Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes. (Weinlaube. 1891. No. 21. p. 241—243.)
- Brisi, U.**, La bacteriosi del Sedano. (Atti d. r. Accad. dei Lincei. (Rendiconti. Vol. VI. 1897. p. 229—234.)
- Chandon de Briailles, R.**, La lutte phylloxérique et la reconstitution en Champagne. (Rev. de viticult. 1897. No. 173, 176, 178. p. 402—405, 496—499, 556—559.)
- Chatin, J.**, Sur une prétendue maladie vermineuse des truffes. (Compt. rend. de l'Acad. d. science. T. CXXIV. No. 17. p. 903—905.)
- Chnard, E.**, Sur les produits de décomposition du carbure de calcium et sur l'emploi de celui-ci comme phylloxéricide. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 22. p. 1247—1248.)
- Costantin, J.**, Sur une entomophthorée nouvelle. (Bulet. de la soc. mycol. de France. 1897. p. 38.)

- Del Guerico, G.**, Intorno ad alcuni cecidii ed ai cecidiosi della Santolina, del „Dendrobium“ e delle Cattleie. (Nuovo giorn. botan. ital. 1897. No. 2. p. 192—198.)
- Duffoure-Basin, Le** black rot et la végétation dans le Bas-Armagnac landais. (Rev. de viticult. 1897. No. 178. p. 571—572.)
- Frank und Krüger, F.**, Die Monilia-Epidemie der Kirschbäume. (Gartenflora. 1897. Heft 12. p. 320—321.)
- —, Weitere Mittheilungen über die Monilia-Epidemie und verwandte Krankheitserscheinungen der Kirschbäume. (Ibid. Heft 15. p. 393—396.)
- Goldi, E.**, Relatoria sobre a molestia do cafeeiro no estado do Rio de Janeiro. (Arch. do museo nacion. do Rio de Janeiro. 1897. p. 9—121.)
- Guosenovic, F.**, Ueber die Bekämpfung des Heuwurmes. (Weinlaube. 1897. No. 20. p. 229—231.)
- Holway, E. W. D.**, A new Californian rust. (Erythea. 1897. No. 3. p. 31.)
- Jacoby, M.**, Further contributions to the knowledge of the phytophagous coleoptera of Africa, including Madagascar. (Proceed. etc. of the zoolog. soc. of London. Part. I. 1897. p. 238—265.)
- Knauth, Das** Auftreten des Kiefernspanners (Fidonia piniaria). IV. Forstl.-naturwissensch. Ztschr. 1897. Heft 4. p. 165—173.)
- Laforest, L.**, Les ennemis de nos jardins. 8°. 318 p. Avec grav. Abbeville (Paillart) 1897.
- de Lapparent, H.**, Sur le black-rot. (Rev. de viticult. 1897. No. 179. p. 595—596.)
- Latière, A.**, Le black-rot et la Roumanie. (Rev. de viticult. 1897. No. 175. p. 482—483.)
- Lavergne, G.**, Black-rot et mildion. (Rev. de viticult. 1897. No. 178. p. 570—571.)
- —, Du réensemencement du black-rot. (Ibid. No. 179. p. 597.)
- Leonardi, G.**, La grillotalpa. (Bollett. di entomol., agrar. e patol. veget. 1897. p. 186—192.)
- Ludwig, F.**, Eine Sklerotienkrankheit der Tulpenzwiebeln. (Dtsche botan. Monatschr. 1897. Heft 5. p. 153—154.)
- Mangin, Sur** une maladie des orchidées causée par le Gloeosporium macropus Sacc. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. No. 19. p. 1038—1040.)
- Mayet, V.**, La cochenille des vignes du Chili (Margarodes vitium Giard). (Annal. de la soc. entomol. de France. 1896. 3. trimestre. p. 419—435.)
- Miroy, C.**, Sur le traitement du Mildiou et de l'Oidium. (Rev. de viticult. 1897. No. 173. p. 408—409.)
- Niesabitowski, E.**, Beitrag zur Fauna der Blatt- und Holzwespen Galisiens. (Anzeig. d. Akad. d. Wissensch. in Krakau. 1897. No. 2. p. 84.)
- Pammel, L. H. and Carver, G. W.**, Fungus diseases of plants at Ames, Iowa, 1895. (Proceed. of the Iowa Acad. of scienc. 1896. p. 140—148.)
- Perraud, J.**, Traitement du black-rot dans les vignobles du Centre et de l'Est. (Rev. de viticult. 1897. No. 175. p. 474—479.)
- Polizei-Verordnung für** die Bürgermeisterei Oberkassel a. Rh., betr. die Bekämpfung der Peronospora. (Weinbau u. Weinhandel. 1897. No. 21. p. 189—190.)
- Ritzema Bos J.**, Botrytis Douglasii Tub., ein neuer Feind der Kiefern-kulturen. (Forstl.-naturwissensch. Ztschr. 1897. Heft 4. p. 174—180.)
- Roze, E.**, Sur le Pseudocommis vitis Debray et sur de nouvelles preuves de l'existence de ce myxomycète. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. No. 20. p. 1109—1111.)
- —, Nouvelles observations sur les bactériacées de la pomme de terre. (Bullett. de la soc. mycol. de France. 1897. p. 29.)
- Silvestre, C.**, Huit jours au pays du black-rot. 16°. 87 p. Lyon (Imp. Legendre & Co.) 1896.
- Solla, E. F.**, Pflanzenkrankheiten. Allgemeine Erörterungen. 8°. 31 p. Triest 1897.
- Thilo, E.**, Vertilgung der Schaftdecken (Melophagus ovinus). (Illustr. landwirtschaftl. Ztg. 1897. No. 37. p. 312.)
- Vassilière, F.**, Le black-rot. (Vigne franç. 1897. No. 8. p. 120—121.)
- Zehner, L.**, Overzicht van de ziekten van het suikerriet op Java. Deel II. Vijanden uit het dierenrijk. Mededeel. v. h. proefstat. Oost-Java. N. serie. No. 37. 8°. 51 p. Soerabaja (van Ingen) 1897.

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Benedicenti, A.**, Beiträge zur Kenntnis der chemischen und physiologischen Wirkungen des Formaldehyds. 1. Mitt. (Arch. f. Physiol. 1897. Heft 3/4. p. 219—257.)



- Grasiani, G.**, Ricerche sperimentali sulla formalina. (Riforma med. 1897. No. 171. p. 244—247.)
- Iwanoff, W. A.**, Zur Frage über das Eindringen der Formalindämpfe in die organischen Gewebe. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 2/3. p. 50—58.)
- Kuhn, E. W.**, Sur un nouveau procédé de stérilisation par la chaleur sous pression. (Journ. de la distill. franç. 1897. No. 678. p. 251—252.)
- Rosenberg, P.**, Ueber die Wirkung von Holzin, Holzinol und Steriform. (Deutsche med. Wochschr. Therap. Beil. 1897. No. 7. p. 53—56.)
- Sträver, P.**, Bestimmung des für Desinfektionszwecke mittels Lampen oder durch Formalin bezw. Holzin erzeugten Formaldehyds. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXV. 1897. Heft 2. p. 856—888.)

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.

- Beijerinck, M. W.**, Weitere Beobachtungen über die Octosporushefe. (Orig.) (Schluß), p. 518.
- Sewerin, S. A.**, Zur Frage über die Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien. (Orig.), p. 504.
- Weigmann, H.**, Zum „Butteraroma“. (Orig.), p. 497.

### Referate.

- Artari, A.**, Ueber einen im Saft der Zuckerfabriken in Gemeinschaft mit Leuconostoc schädlich auftretenden, den Zucker zu Alkohol und Säure vergärenden Saccharomyces (S. Zopfi), p. 529.
- Baier, Ed.**, Die Pilzflora der Milch und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozeß, p. 530.
- Buchner, Eduard**, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen, p. 527.
- Buchner, E.**, Fortschritte in der Chemie der Gärung, p. 528.
- Hollrung, Max**, Achter Jahresbericht über die Thätigkeit der Versuchstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz zu Halle a. S. Bemerkungen über die im Jahre 1896 in der Provinz Sachsen wahrgenommenen Pflanzenkrankheiten, p. 535.

- Martiny, B.**, Versuche zur Ergründung der wirksamen Bestandteile der langen Wei, p. 534.
- Miyoshi, M.**, Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko, p. 526.
- Miyoshi, M.**, Ueber das massenhafte Vorkommen von Eisenbakterien in den Thermen von Ikao, p. 527.
- Schlemens, F.**, Zur Tipulidenplage, p. 538.
- Sopitt, H. T.**, Bemerkungen über Puccinia Digraphidis Sopitt, p. 534.
- Sorauer, Paul**, Feldversuche zwecks Feststellung einer Abhängigkeit der bakteriösen Gummosis der Zuckerrüben von Witterungs- und Bodeneinflüssen, p. 535.

### Entwicklungshemmung u. Vernichtung der Bakterien etc.

- Die Bekämpfung der Gelbsucht der Reben auf Kalkböden nach dem Verfahren von Rassignier, p. 540.
- Dufour, J.**, Ueber „Mildiol“, p. 539.
- Nérard, J. B.**, Ueber die Wirkung von Kupferlösung gegen Peronospora und Blackrot, p. 539.
- Peglion, V.**, Ueber die Behandlung der Reben behufs Bekämpfung der Peronospora viticola, p. 539.

Neue Litteratur, p. 540.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Privatdozent Dr. Lindau in Berlin, Dr. Lindner  
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in  
Washington, D. C., U. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer  
in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel und Dr. Winogradsky in St. Petersburg  
herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 19. November 1897.**

**No. 21/22.**

---

**Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.**

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die  
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung  
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

---

## **Original - Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Ueber den Einfluss des Naturlabes auf die Reifung des Emmenthalerkäses.**

[Arbeit aus dem bakteriologischen Laboratorium der Molkereischule  
Rütti.]

Von

**Dr. Ed. v. Freudenreich und Orla Jensen.**

Bei der Käsefabrikation spielt das Labferment eine höchst wichtige Rolle, denn von seiner richtigen Verwendung (Temperatur der Milch, kürzere oder längere Wirkungsdauer u. s. w.) hängt vielfach die Qualität des Endproduktes ab, daher auch bei verschiedenen Käsesorten die Milch in ganz verschiedener Weise gelabt wird. Diese Erfahrungen, verbunden mit der geheimnisvollen Wirkungsweise dieses

Enzymes, machen es daher erklärlich, daß von altersher der Praktiker dieses Labferment mit einer fast mystischen Kraft ausgestattet hat, eine Anschauung, die selbst in neueren Lehrbüchern sich z. T. wiederfindet. Wohl deswegen auch zieht es der Schweizer Käser, durch langjährige Erfahrung belehrt, vor, sein Labferment selbst zu bereiten, statt die im Handel erhältlichen Labpulver und Extrakte zu verwenden. Obwohl letztere sich in ihren chemischen Wirkungen von den ersteren kaum unterscheiden, so läßt sich in der That nicht leugnen, daß sie die spätere Gärung des Käses nicht so günstig beeinflussen, wie das in der Käseerei selbst hergestellte Naturlab. Es ist dieses eine Thatsache, die sich schwer erklären ließ, solange die inneren Vorgänge bei der Reifung des Käses so gut wie völlig unbekannt waren. Seit aber, dank der bakteriologischen Forschung der letzten Jahre, außer Zweifel gesetzt worden ist, daß die Reifung das Werk der Bakterien ist, darf man sich der Hoffnung hingeben, über diesen und ähnliche Punkte Licht bringen zu können. Einen Versuch in dieser Richtung hat bereits Dr. Fr. Jos. Herz gemacht, indem er in seiner Arbeit „Die Bedeutung der Bakteriologie für die Käsebereitung“<sup>1)</sup> auf die im Naturlab, dessen Bereitung wir sogleich besprechen werden, stattfindende kolossale Bakterienvermehrung aufmerksam machte, deren Zusatz zur Milch nicht gleichgültig sein könne, während im Gegenteil, nach Forschungen von Adametz das künstliche Lab viel bakterienärmer sei.

Eine bloße Vermehrung der Bakterienzahl der Milch infolge des Labzusatzes giebt uns jedoch noch keine hinlängliche Auskunft über den Grund der Ueberlegenheit des Naturlabes gegenüber dem künstlichen Lab, solange wir nicht wissen, ob diese Bakterien es sind, welche die Reifung des Käses bedingen. Seit aber der eine von uns nachgewiesen hat (vgl. die in diesem Blatte Bd. III. p. 231 erfolgte Mitteilung und die im diesjährigen landw. Jahrbuche der Schweiz erscheinende ausführlichere Publikation), daß die Käsereifungsbakterien zu einer bestimmten Gruppe von Bakterien, und zwar zu derjenigen der Milchsäurefermente<sup>2)</sup> gehören, ist die Lösung dieser Frage, wie uns scheint, leichter geworden.

Wir haben daher im Nachfolgenden das sog. Naturlab zum Gegenstande einiger Untersuchungen gemacht.

Dasselbe wird bekanntlich in den besseren Emmenthalerkäsereien heutzutage in folgender Weise hergestellt: Gut abgeschabte und getrocknete Kälbermagen läßt man 48 Stunden lang in Schotte — die nach Ansäuerung mit sog. „Sauer“ erwärmte und dadurch von Fett (Vorbruch) und Albumin (Ziger) befreite Molke — bei einer Temperatur von 20–35° digerieren; jedesmal prüft der Käser die Stärke dieses Labes, bevor er ihn anwendet. Die Bakterienentwicklung wird, wie man sieht, durch diese Herstellungsweise sehr begünstigt. So hat denn Herz im frischen Labmagenauszug 11 000 Bakterien im

1) Mitteilungen des milchw. Vereins im Allgäu. 1894. Heft 5.

2) Wir brauchen diesen etwas vagen Ausdruck in Ermangelung eines besseren; damit soll bloß gesagt werden, daß die Reifungsbakterien zu derjenigen Gruppe von Bakterien gehören, welche die Eigenschaft besitzen, aus Milchsucker Milchsäure zu bilden.

ccm gefunden, im eintägigen Labauszug dagegen 3 306 000 im ccm und im zweitägigen 101 000 000 Bakterien per ccm. In Weiler, wo Herz seine Versuche ausführte, braucht man 2—3 l des Labauszuges pro 1000 l Milch. Auf jeden ccm Milch trafe somit ein Zusatz von 200 000—300 000 Keimen, was immerhin eine ziemlich bedeutende Bereicherung der Milch ausmacht. Herz hat zwar den Keimgehalt der Kesselmilch nicht berechnet, nimmt aber an, daß er mindestens 10—20 000 Keime per ccm betragen müsse, da der eine von uns früher gezeigt hat, daß frisch gemolkene Milch mindestens diese Zahl Bakterien enthalte. Um auf diesem von Herz angebahnten Wege weiter zu gehen und seine Versuche zu ergänzen, suchten wir folgende drei Punkte näher zu präzisieren:

1) Mengenverhältnis der Bakterien der Kesselmilch und des Labes.

2) Wie viele dieser Bakterien können das sog. Nachwärmen überstehen und in den Käse übergehen<sup>1)</sup>?

3) Welche von diesen Bakterien sind von Einfluß auf die Käse-reifung?

Um diese Zählungen auszuführen, bedienten wir uns der Gelatineplattenmethode; anfänglich brauchten wir Milchzucker-Peptongelatine, später verwendeten wir gleichzeitig Molkegelatine mit Peptonzusatz, die sich als ein besserer Nährboden erwies. Da jedoch viele der Käsemilchsäurebakterien auf Gelatine nicht oder nur sehr schlecht wachsen, brauchten wir zur qualitativen Untersuchung stets auch Milchzuckeragar-Oberflächenplatten (vgl. diese Zeitschrift. I. p. 169).

In dieser Beziehung müssen wir aber gleich bemerken, daß solche Zählungen nur relativen Wert haben können, da sie nur angeben, wie viel Bakterien auf dem gewählten Nährboden sich entwickeln, und wie wir sehen werden, haben sich gerade viele der wichtigsten im Lab gefundenen Arten gar nicht auf der Gelatine entwickelt.

Ad 1. Die Kesselmilch untersuchten wir in dieser Versuchsserie dreimal, das Lab viermal. Die Milchproben wurden unmittelbar vor dem Labzusatz aus dem Käsekessel entnommen und sofort nach Ankunft im Laboratorium verarbeitet. Während des ca.  $\frac{1}{2}$  Stunde dauernden Transportes blieben die Proben (auch das Lab u. s. w.) in Eisverpackung.

Im ersten Versuch enthielt die Milch im Mittel 64 330 Keime per ccm; im zweiten Versuche 239 000 und im dritten, von welchem an neben der Milchzuckergelatine auch Molkegelatine gebraucht wurde, gab erstere 57 900 Keime per ccm, während die Molkegelatine 65 600 Keime per ccm lieferte. Was die gefundenen Arten anlangt, so waren diese die gewöhnlichen Milchbewohner, nämlich hauptsächlich ein ovaler Coccus, der in jeder spontan sauer werdenden Milch zu finden ist (wohl identisch mit Leichmann's Bacillus), ein ver-

1) Daß die bei dem Nachwärmen angewandte Temperatur manche Bakterien abtötet, wissen wir bereits. Vgl. Dr. E. d. v. Freudenreich: Ueber den Einfluß der bei dem Nachwärmen angewandten Temperatur auf die Bakterienzahl in der Milch und im Käse. (Diese Zeitschrift. Bd. I. p. 760.)

flüssigender Coccus, *Bact. lactis aërogenes*, ferner ein fast stets in der Milch vorkommender, nicht verflüssigender Bacillus, dessen Kolonien auf der Oberfläche der Gelatine strahlenförmig sich ausbreiten, sowie einige wenige Hefepilze und andere vereinzelt gewachsene Bakterienarten. Die gefundenen Zahlen sind als normale zu bezeichnen, wenn man bedenkt, daß die Kesselmilch außer der frisch gemolkenen, ca. 2—3 Stunden alten Milch noch etwa 10 Proz. abgerahmte 12-stündige Milch enthält. Schwankungen im Bakteriengehalt, wie sie in unseren Versuchen vorkamen, sind auch nichts Anormales, da ja die Tagestemperatur hier von Einfluß ist.

In diesen 3 Versuchen wurde gleichzeitig das Lab untersucht (zweitägiger Labauszug). Im 1. Versuche betrug die Keimzahl 35 665 833 per ccm, im 2. Versuche 23 989 580, im 3. Versuche, in welchem auch Molkegelatine gebraucht wurde, hatte man mit der Milchzuckergelatine 145 120 000 Keime per ccm, und 389 840 000 mit der Molkegelatine. Auch hier sieht man die Ueberlegenheit der Molkegelatine. Noch eine 4. Labprobe wurde einer Zählung unterworfen; sie ergab 45 120 000 Bakterien per ccm.

Die Schwankungen, die sich hier ergeben und in einem Fall recht bedeutend sind, lassen sich leicht erklären, wenn man bedenkt, daß die Labauszüge nicht in regulierten Apparaten gehalten werden, sondern meist auf einem nicht regulierten Ofen aufbewahrt werden. Immerhin zeigen diese Versuche, daß das Lab im Verhältnis zur Milch immer äusserst keimreich ist. Der Unterschied zwischen unseren Zahlen und denjenigen von Herz erklärt sich ebenfalls durch Temperaturunterschiede; in Weiler wird nämlich der Labauszug bei höherer Temperatur gehalten als in der Rütli.

Was die auf den Gelatineplatten gewachsenen Kolonien anlangt, so fanden wir hauptsächlich den ovalen Micrococcus, *Bact. lactis aërogenes*, eine Hefe, die wir mit *Mycoderma cerevisiae* identifizieren konnten und im 3. Versuche sehr viele mikroskopische Kolonien eines Bacillus, der auf Agar verimpft, gelblich-weiße Kulturen gab. Derselbe verflüssigt die Gelatine nicht, ist kein Säurebildner und scheint, obwohl er im Lab dieses Mal in großer Anzahl vorhanden war, keine Rolle bei der Käseifeung zu spielen, denn wir können uns nicht erinnern, ihm bei früheren Käseanalysen begegnet zu sein. Im 4. Versuche hatten wir auf den Gelatineplatten außer dem ovalen Coccus viele mikroskopische Kolonien, die aber nicht aus dem Bacillus des Versuches 3 bestanden, sondern aus einem Milchsäureferment, *Bacillus δ*, der auf den Agarplatten besonders zahlreich vertreten war.

Die gefundenen Zahlen geben uns indessen nur ein sehr schwaches Bild von dem Bakterienreichtum des Labes, da, wie wir sehen werden, auf der Gelatine nicht alle Bacillenarten wachsen, die sich sehr gut auf unseren Agarflächenplatten entwickelten, und die wohl am reichlichsten im Lab vertreten sind, denn, wenn man ein mikroskopisches Präparat des Labauszuges untersucht, so wimmelt dasselbe von Bacillen, die mit den auf den Agarplatten wachsenden identisch zu sein scheinen, während die Mikroorganismen, die auf der Gelatine wachsen, in den Präparaten nur spärlich zu sehen sind.

Aber selbst wenn man von den auf den Gelatineplatten nicht wachsenden Arten absieht, bedeutet der Labzusatz eine beträchtliche Bereicherung der Milch an Bakterien. Selbst wenn wir Versuch 3. bei Seite lassen, in welchem das Lab sehr keimreich war, ist durch den Labzusatz die Bakterienzahl der Kesselmilch mindestens verdoppelt worden (wenn wir annehmen, daß auf 1 Theil Labflüssigkeit 300 Theile Milch kommen). In Versuch 3. wäre die Bereicherung noch viel bedeutender.

Das Resultat der bei 35° gehaltenen Agarplatten war mit Bezug auf die gewachsenen Arten ein überraschendes.

Im 1. Versuche wuchsen außer zahlreichen Kolonien von *Mycoderma cerevisiae* äusserst viele, sehr kleine Kolonien, denjenigen ganz ähnlich, die man bei Käseuntersuchungen erhält. Es waren da 2 Bacillenarten vertreten, die uns identisch zu sein scheinen mit den von dem einen von uns aus Käse isolierten Bacillen  $\delta$  und  $\epsilon$ , jedenfalls sind sie, wenn nicht absolute Identität vorliegen sollte, Varietäten derselben; beide sind Milchsäurebildner;  $\epsilon$  bringt auch die Milch zum Gerinnen, und seine Rolle bei der Käsureifung ist durch das Resultat der Analyse seiner Milchkulturen konstatiert worden. (Vgl. die erwähnte, demnächst im landw. Jahrbuche der Schweiz erscheinende Arbeit.) Den Bacillus  $\delta$  haben wir in dieser Beziehung noch nicht geprüft, aber seine Eigenschaft als Milchsäurebildner und sein häufiges Vorkommen im Käse lassen ihn ebenfalls in die Gruppe der Käsureifungsbakterien versetzen. Außerdem erhielten wir noch einige Exemplare des gelb-weißliche Kolonien bildenden Bacillus, welcher in der Gelatine in Form kleinster Kolonien aufgetreten war.

Im 2. Versuch fanden wir wiederum *Mycoderma cerevisiae*, sowie den  $\epsilon$ -ähnlichen Bacillus, nebst einigen Kolonien vor *Bac. lactis aërogenes*.

Auch im 3. Versuche traf man *Mycoderma cerevisiae* und eine Masse Kolonien der  $\delta$ - und  $\epsilon$ -Bacillen.

Hier und da trafen wir auch vereinzelt Kolonien von Bacillen an, die zu dem Typus  $\delta$  oder  $\epsilon$  gehörten, aber doch morphologische Eigentümlichkeiten zeigten. Sie konnten jedoch nicht näher untersucht werden.

Ad 2. Zur Beantwortung der zweiten und für unsere Arbeit noch wichtigeren Frage, um nämlich zu erfahren, wie viele der in der Kesselmilch und im Lab enthaltenen Bakterien das Nachwärmen ertragen und daher in den Käse übergehen können, erwärmten wir die Milch- und Labproben  $1\frac{1}{2}$  Stunde auf 55° und machten dann Zählungen in der üblichen Weise.

In diesem Versuche ergab sich, was die Milch anlangt, gegenüber den früheren, ein großer Unterschied, je nachdem Molkegelatine oder Milchzuckergelatine angewandt wurde. Mit ersterer hatten wir 22 680 Bakterien per ccm, mit letzterer bloß 490. Die Kolonien bestanden meist aus dem ovalen Coccus, dem verflüssigenden Micrococcus, *Bact. lact. aërogenes* und einigen anderen spärlich vertretenen zufälligen Milchwohnern. Dieser große Unterschied zwischen Molkepepton- und Milchzuckergelatine ist vielleicht so zu erklären, daß die Bakterien bei 55° meist nur abgeschwächt und

nicht getötet werden, so daß sie sich auf einem sehr günstigen Nährmedium noch entwickeln können, während in der weniger günstigen Milchzuckergelatine kein Wachstum mehr erfolgt.

Im Lab, der vor der Erwärmung auf Milchzuckergelatineplatten 45 120 000 Keime per ccm gegeben hatte, fanden wir nun nach dieser halbstündigen Erwärmung auf 55°, 806 400 Keime per ccm auf den Milchzuckergelatineplatten und 1382 600 mit den Molkegelatineplatten. In beiden Fällen wuchsen der ovale *Micrococcus* und die bereits erwähnten mikroskopischen Kolonien des *Bacillus*  $\delta$ . Auf den Agarplatten wuchsen die  $\delta$ - und  $\epsilon$ -ähnlichen Bacillen. *Mycoderma cerevisiae* war verschwunden.

Die gefundenen Zahlen geben uns freilich in diesem Falle ein verhältnismäßig noch ungenaueres Bild, da, wie gesagt, gerade die typischen Bakterien, so z. B. *Bac.  $\epsilon$* , auf der Gelatine nicht wachsen, und dieser, wie das Resultat der Agarplatten zeigt, ebensogut wie  $\delta$  und der ovale *Coccus* die Temperatur des Nachwärmens erträgt. Diese Bacillen scheinen sogar noch höhere Temperaturen vertragen zu können, denn als wir die Labflüssigkeit in kleinen Glasröhren  $\frac{1}{4}$  Stunde lang höher erwärmten und darauf in Milchzuckeragar einimpften, sahen wir noch bei 60 und 70° Entwicklung eintreten. Immerhin dürfen wir aus den erwähnten Versuchen schließen, daß wohl die Hauptmenge der im Lab enthaltenen Bakterien in den Käse übergehen können.

Zur besseren Uebersichtlichkeit resümieren wir die angeführten Resultate in folgender Tabelle:

	Kesselmilch	Lab
	A. Bakterienzahl	A. Bakterienzahl
1. Versuch	64 380 per ccm	85 645 833 per ccm
2. „	239 000 „ „	23 989 580 „ „
3. „	{ 57 200 „ „ (Milchzucker- gelatine)	{ 145 120 000 „ „ (Milch- zuckergelatine)
4. „	{ 65 600 per ccm (Molkegelat.)	{ 389 840 000 per ccm (Molke- gelatine)
a) ohne vorherige Erwärmung	—	45 020 000 „ „
b) nach $\frac{1}{2}$ stündiger Erwärmung auf 55°	{ 490 per ccm (Milchzucker- gelatine)	{ 806 400 „ „ (Milch- zuckergelatine)
	{ 22 680 per ccm (Molkegelat.)	{ 1 382 400 per ccm (Molke- gelatine)
	B. Gefundene Arten (Gelatine und Agar).	B. Gefundene Arten (Gelatine und Agar).
	Ovaler <i>Coccus</i> , verflüssigender <i>Coccus</i> der Milch, <i>Bact. lactis</i> <i>aërog.</i> , ein strahlenförmige Kolonien bildender, nicht ver- flüssigender <i>Bacillus</i> und einige Hefepilze.	Ovaler <i>Coccus</i> , <i>Bact. lactis</i> <i>aërog.</i> , <i>Mycod. cerevisiae</i> , nichtverflüssigender, gelbe Kolo- nien bildender <i>Bacillus</i> , und be- sonders viel $\delta$ - und $\epsilon$ -Bacillen.

Im Anschluß an diese Versuchsserie untersuchten wir noch unmittelbar nach Herstellung eines Käses die ganz frische Käsemasse und die im Kessel verbliebene Molke, um zu sehen, ob in Bezug auf Menge und Qualität der Bakterien ein Unterschied sich zeigen würde.

Die Molke enthielt 64 980 Bakterien per ccm, die frische Käsemasse 866 000 per ccm, und noch wäre letztere Zahl als ein Minimum

anzusehen, denn die frische Käsemasse ist sehr zähe und läßt sich schwer verreiben, so daß eine Zählung hier kaum die wirkliche Bakterienzahl angeben kann. Dieser große Unterschied mag auf den ersten Blick befremdend erscheinen, er erklärt sich indessen leicht, wenn man folgendes bedenkt: Nachdem die Milch durch die Labwirkung geronnen ist, wird sie zunächst sehr vorsichtig mit dem sog. Käseäbel zerschnitten und mit der Käskelle „verzogen“, was zur Folge hat, daß die Molke langsam abfließt, dabei muß naturgemäß die geronnene Milch als Schwamm oder Filter fungieren, so daß die austretende Molke den größeren Teil ihrer Bakterien in dieser geronnenen Masse zurückläßt. Nachher wird die Masse mit dem Käsbrecher noch mehr zerkleinert, aber anfänglich noch immer langsam; dieser Filtrationsvorgang geht also weiter vor sich und es ist daher nicht mehr auffallend, wenn nachher die Käskörner mehr Bakterien enthalten als die Molke. Ein Analogon haben wir überdies in dem Verhalten der Fettkügelchen, die aus dem gleichen Grunde auch zum größten Teil in die Käskörner übergehen, statt in der Molke zu verbleiben.

Was dagegen die Bakterienarten anlangt, so waren keine Unterschiede wahrnehmbar. Auf den Agarplatten wuchsen ovale Kokken und Bacillus  $\epsilon$ , auf den Gelatineplatten der ovale Coccus und ganz kleine Kolonien von  $\delta$ .

Ad 3. Wie wir nun wissen, kommen bei der Käsureifung hauptsächlich Milchsäurefermente in Betracht. Von solchen trafen wir in der Milch nur den ovalen Coccus an; im untersuchten Lab dagegen fanden wir außer demselben zwei weitere Organismen in großer Menge, die sich ebenfalls als Milchsäurebildner charakterisieren und die uns mit zwei der im Emmenthaler Käse vorkommenden typischen Varietäten dieser Milchsäurefermente identisch zu sein scheinen, nämlich die Bacillen  $\delta$  und  $\epsilon$ , und die, wie gesagt, das Nachwärmen vertragen können. Sollte es sich nun zeigen, daß diese Milchfermente im künstlichen Lab, resp. im Labmagen selber, nicht anzutreffen sind, was die weiter unten anzuführenden Versuche auch bestätigen werden, so läge gerade hierin der Grund, warum das Naturlab die Käsureifung so günstig beeinflußt, nämlich nicht bloß dadurch, daß es die Milch an Bakterien überhaupt bereichert, sondern hauptsächlich, weil es derselben solche Bakterien zuführt, die für die fernere Reifung notwendig sind. Sehr wahrscheinlich scheint uns überdies, daß bei fortgesetzten Untersuchungen noch andere Reifungsbakterien im Labe sich werden finden lassen, wie z. B. die Bacillen  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\iota$  u. s. w., von denen in der mehrerwähnten demnächst erscheinenden Arbeit die Rede ist. Ueberhaupt sind die vorstehenden Versuche nur als orientierende Versuche in dieser Richtung aufzufassen, die noch vielfach der Vervollständigung bedürfen.

Herz hatte bereits gesehen, daß die Acidität des Naturlabes täglich zunimmt — nach Bereitung desselben betrug sie 1,92 ccm Normallauge für 100 ccm, nach 1 Tage 3,33 ccm und nach 2 Tagen 4,25 ccm. Schon dieses demonstriert die Ueberhandnahme der Milchsäurefermente in der Labflüssigkeit, welche durch unsere Versuche nun auch auf experimentellem Wege festgestellt worden ist.

Woher kommen nun diese in der Labflüssigkeit angetroffenen



Milchsäurefermente? Wären sie im Labmagen selber enthalten, so würde man sie auch im künstlichen Lab finden, was nach früheren Untersuchungen, die der eine von uns bei anderem Anlaß über den Bakteriengehalt der Labtabletten angestellt hatte, nicht der Fall ist. Unsere ergänzenden Versuche gaben auch das gleiche Resultat. Zu diesem Zwecke wurde eine Probe Labmagen klein zerschnitten, in Wasser aufgeweicht, gut verrieben und dann daraus Platten hergestellt. Wir erhielten Kolonien verflüssigender Bacillen und besonders kleine, nicht verflüssigende Kolonien eines sehr großen Bacillus, den wir sonst nirgends angetroffen haben. Aus dem Labmagen selber scheinen also die später im Naturlab auftretenden typischen Bakterien nicht zu stammen. Sie müssen daher bereits in der Schotte enthalten sein, welche zur Bereitung des Labes dient. Bringt man nun frisch bereitete Schotte noch heiß in sterile Gläser und läßt man sie 2 Tage lang bei 25° stehen, so findet man in derselben allerdings Milchsäurefermente, wie wir feststellen konnten. In der von uns untersuchten Probe fanden wir nämlich u. a. den ovalen Coccus, sowie die Bacillen  $\epsilon$  und  $\delta$ . Wenn wir nun weiter fragen, woher dieselben in die Schotte kommen, so kann man vor allem die Milch selber ausschließen, denn in der erwärmten Milch fanden wir sie nicht. Sieht man nun von einer, zwar immerhin möglichen, Luftinfektion ab, so bliebe es uns wohl nur übrig, diese Bakterien im sog. „Sauer“ zu suchen, der, wie früher erwähnt, bei der Gewinnung der Schotte in Anwendung kommt. Derselbe ist nichts anderes als Schotte, die man der Selbstsäuerung überlassen hat, und die in hölzernen Tonnen (Sauerstände) in der Käserei aufbewahrt wird; die Tonnen werden stets mit Schotte nachgefüllt, so daß der Säuerungsprozeß immerfort sich fortsetzt.

Wir untersuchten daher den Sauer in ähnlicher Weise, wie wir es mit dem Lab gethan hatten. Das Resultat war folgendes:

In einem ersten Versuch betrug der Keimgehalt 61 337 500, in einem zweiten Versuche 14 560 000 Keime per ccm. Der Unterschied zwischen den zwei Zählungen hat nichts Auffälliges, da sie an verschiedenen Tagen stattfanden und der Bakteriengehalt des Sauers naturgemäß jeden Tag wechseln muß, je nachdem mehr oder weniger frische Schotte zugesetzt worden ist, und je nach der Temperatur des Raumes, in welchem der Sauer aufbewahrt wird.

Was die isolierten Arten anlangt, so fanden wir auf der Gelatine Hefekolonien, den ovalen Coccus, auch Bac.  $\delta$  und die bereits erwähnten, auf Agar gelbliche Kulturen gebenden Bacillen, die nicht Milchsäurebildner sind. Auf Agar wuchsen außer einigen Kolonien der letzteren besonders die Bac.  $\delta$  und  $\epsilon$  und zwei Hefearten. Die eine war *Mycoderma cerevisiae*, die andere eine milchzuckervergärende Hefe, die wir mit keiner der uns bekannten Hefearten identifizieren konnten. Diese Hefe ist ein echter *Saccharomycet*, der auf Gipsblöcken bei 25° nach 23 Stunden Scheidewände und 3 bis 4 Sporen bildet. Diese Hefe haben wir in dem Naturlab nicht gefunden, was sich daraus erklärt, daß sie gegenüber der Wärme weniger resistent ist als *Mycoderma cerevisiae*. Letzteres ertrug nämlich noch eine Temperatur von 70°  $\frac{1}{4}$  Stunde lang, während

erstere nur diejenige von 65° überstehen konnte. Der Gegenwart dieser milchzuckervergärenden Hefe verdankt jedenfalls der „Sauer“ seinen angenehmen alkoholischen Geruch.

Was  $\delta$  und  $\epsilon$  anlangt, so haben wir früher gesehen, daß sie gegenüber der Wärme ziemlich resistent sind, allem Anschein nach stammen daher die im Naturlabe vorkommenden Individuen dieser Gattung aus dem Sauer.

Aus den dargestellten Untersuchungen ergibt sich also, daß wir im Sauer und im Naturlab Milchsäurefermente haben, die für die Käsereifung typisch zu sein scheinen, da sie auch in reifenden Käsen stets in großer Zahl gefunden werden. Einige derselben entwickeln sich am besten bei höherer Temperatur, was die Thatsache erklärt, daß die Gärung der Käse erst dann recht anfängt, wenn dieselben in den erwärmten Gärraum gelangen.

Ein fernerer Ergebnis unserer Untersuchungen wäre, daß man Kunstlab wohl ebenso erfolgreich verwenden könnte wie Naturlab, wenn man nur dafür sorgen würde, daß mit ihm, wie mit dem Naturlab, der Milch die notwendigen Käsereifungsbakterien zugeführt werden. Dieses ließe sich dadurch z. B. erreichen, daß man etwa unmittelbar vor dem Labzusatz eine genügende Menge zweitägiger saurer Schotte hinzufügen würde. Wir schlagen eine zweitägige Schotte deshalb vor, weil eine solche nach der Erfahrung der Schweizerkäser die besten Resultate giebt, und zwar wohl aus dem Grunde, weil in diesem Stadium die Bakterien den höchsten Grad von Lebensfähigkeit besitzen. Bei diesem Verfahren hätte man den Vorteil, Labauszüge von stets bekannter Stärke zu gebrauchen, während bei Verwendung von Naturlab der Käser sich stets über die Stärke seines Labes orientieren muß. Daß eine solche Methode gute Resultate liefern dürfte, ergibt sich auch aus der Fabrikationsweise der Edamerkäse, bei welcher Kunstlab verwendet, aber vorher saure Molke (lange Wei) zugesetzt wird, die wahrscheinlich eine ähnliche Rolle spielt wie die Schotte, welche der Schweizerkäser bei der Bereitung seines Naturlabes verwendet.

Jedenfalls zeigen unsere Versuche, daß dem Sauer und der Schotte, die zur Labbereitung dienen, nicht genug Aufmerksamkeit geschenkt werden kann, da sie bei der heutigen Fabrikationsweise als Träger der nötigen Käsefermente zu betrachten sind. Bisher hat man letztere sich darin spontan entwickeln lassen, wie es auch mit dem bei der Butterfabrikation verwendeten „Säurewecker“ der Fall war. Wie aber letzterer durch Einführung von Bakterienreinkulturen wesentlich verbessert werden kann, so würde wahrscheinlich durch Auswahl passender Käsefermente und künstliche Einbringung derselben in den Sauer, vielleicht nach vorheriger Pasteurisierung des letzteren, — und dadurch auch in die Schotte — die spätere Käsegärung sich in noch günstigerer Weise beeinflussen lassen, als es jetzt der Fall ist. Vorderhand wird es Aufgabe der Bakteriologie sein, unter den zahlreichen Käsefermenten diejenigen auszusuchen, welche die beste Wirkung ausüben.

Bern, 7. Sept. 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage über die Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserl. russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von

S. A. Sewerin

in

Moskau.

(Schluß.)

Mit 16 Figuren.

Wie bei diesem, so auch bei allen folgenden Versuchen wurde Fleischpeptonbouillon zu 20 ccm in einer Matras nach Pasteur in Verwendung gezogen; die Kulturen wurden beständig in den Thermostaten bei 30° C auf 10 Tage gestellt. Die Impfungen wurden aus 2-tägigen Nitrattbouillonkulturen, ein Platinöhr voll, gemacht. Bei der ersten Serie von Versuchen wurde zur Bouillon  $\text{NaNO}_3$  in Mengen von 3, 6, 7, 8, 9, 10 g auf 1 l hinzugefügt. Die Prüfung mit Diphenylamin und  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in verschiedenen Zwischenräumen der 10-tägigen Kulturperiode ergab das Nichteintreten der Reaktion bei 3 g auf 1 l nach 2 Tagen sowohl bei *B. pyocyaneus*, als auch bei No. 3; bei 6 g auf 1 l verschwand die Reaktion bei No. 3 am häufigsten nach 3 Tagen, zuweilen aber auch schon nach 2 Tagen, bei *B. pyocyaneus* trat dieses nach sehr verschiedenen Fristen ein, nach 2, 3, 4, 5 und sogar 6 Tagen. Bei größeren Mengen Nitrat waren die Kulturen schon nicht mehr imstande, alles ihnen dargebotene Nitrat zu reduzieren, so daß schon bei 7 g auf 1 l, nach Verlauf von 10 Tagen noch eine starke Reaktion mit Diphenylamin erhalten wurde.

Die zweite Serie von Versuchen wurde angestellt, um festzustellen, auf welche Art die angeführten Mikroorganismen ihre produktive Energie äußern werden in dem Falle, wenn die Bouillon nicht  $\text{NaNO}_3$ , sondern  $\text{KNO}_3$  enthielt. Es ergab sich dabei Folgendes: Bei 3—6 g  $\text{KNO}_3$  auf 1 l Bouillon waren die Fristen dieselben wie bei  $\text{NaNO}_3$ , bei 7 g auf 1 l dagegen gab No. 3 in der Mehrzahl der Fälle nach Verlauf von 10 Tagen schon keine Reaktion mehr mit Diphenylamin, ein größeres Quantum aber als das letztere ist es jedoch nicht mehr imstande zu ersetzen. *B. pyocyaneus* reduziert schon in 7—8 Tagen  $\text{KNO}_3$  in Mengen von 7, 8, 9 g auf 1 l, 10 g jedoch werden von demselben nicht mehr in einer 10-tägigen Periode vollständig zerlegt. Hieraus sieht man, daß  $\text{NaNO}_3$  und  $\text{KNO}_3$  nicht mit gleicher Energie zersetzt werden, es äußert sich deutlich die Natur des betreffenden Alkalimetalles; das Kalisalz wird in größeren Mengen reduziert als das Natronsalz; besonders deutlich läßt sich dieses bei *B. pyocyaneus* beobachten. Ein ebensolcher Ersatz des Natronsalzes durch Kalisalz wurde bei der Untersuchung

von Kulturen No. 4, No. 6 *B. indicus* und noch einer stäbchenförmigen Bakterie ausgeführt; hier übte aber die Verschiedenheit der Salze keinen Einfluß aus, sowohl das Natron als auch das Kalisalz wurden in gleichgroßen Mengen reduziert.

Eine dritte Serie von Versuchen kam zur Ausführung, um zu erfahren, welche Mengen  $\text{NaNO}_3$  und  $\text{KNO}_3$  zerstört werden bei gemeinschaftlicher Einwirkung von Kultur No. 3 und *B. pyocyaneus*. Die Resultate der Versuche zeigten, daß die Reduktion genau so vor sich geht, wie wenn in der Bouillon *B. pyocyaneus* allein sich befinden würde, d. h. bei  $\text{NaNO}_3$  wurden in 10 Tagen nicht mehr als 6 g auf 1 Liter reduziert, bei  $\text{KNO}_3$  nicht mehr als 9 g. Ein derartiges Resultat ließ sich übrigens schon voraussehen in Folge dessen, daß *B. pyocyaneus* sich in Bouillon bedeutend energischer entwickelt als No. 3, und aus diesem Grunde selbstverständlich die Entwicklung des letzteren unterdrückt, welche Voraussetzung auch durch das Aussehen der Bouillon, in welcher beide Kulturen gleichzeitig untergebracht sind, unterstützt wird. Dieselbe hat nämlich den Anschein, als ob in ihr sich *B. pyocyaneus* allein befinden würde. Berücksichtigung verdient hier noch der Umstand, daß die Grenze, über welche hinaus meine Mikroorganismen nicht mehr imstande sind, das ganze ihnen dargebotene Quantum (Natron)-Nitrat zu reduzieren, genau zusammenfällt mit den von Stutzer und Burri für ihre Kulturen angegebenen Resultaten; sowohl bei diesen Autoren, als auch bei mir stellen 0,6 Proz.  $\text{NaNO}_3$  die Grenze für volle Zersetzung vor. Wenn wir dabei noch die Schnelligkeit des Denitrifikationsprozesses in Betracht ziehen, so erscheinen meine Kulturen mit mehr Energie begabt, da 6 g auf 1 l von No. 3 vollständig in 2—3 Tagen reduziert werden, während bei *B. pyocyaneus* diese Periode zwischen 3—6 Tagen schwankte. Bei Stutzer und Burri dagegen tritt die volle Zersetzung der Nitrate bei 6 g auf 1 l erst nach 7—8 Tagen ein.

Nun fragt es sich, worin wohl die Ursache der Erschöpfung der reduktiven Fähigkeit unserer Mikroorganismen zu suchen wäre, liegt dieselbe in der Anhäufung von Nitriten oder in der intensiver werdenden Alkalinität der ausgegorenen Nitratbouillon? Der letztere Umstand ist unzweifelhaft vorhanden, da die ausgegorene Bouillon sowohl bei No. 3 als auch bei *B. pyocyaneus* immer stark alkalisch reagiert. Was jedoch die Anhäufung von Nitriten betrifft, so zeigten sich bei meinen Kulturen bedeutende Unterschiede. Bei *B. pyocyaneus* kann man schon vom ersten Tage an eine starke Reaktion mit Jodzinkstärke konstatieren, dagegen erhält man bei No. 3, ganz im Gegenteil, überhaupt niemals während der ganzen Gärungsperiode eine Nitritreaktion. Auf diese Art ist für No. 3 die Möglichkeit einer hemmenden Wirkung von Nitriten ausgeschlossen, da dieselben überhaupt nicht gebildet werden. Um nun den Einfluß des gebildeten Nitrites auf die Entwicklung von *B. pyocyaneus* zu erforschen, führte ich eine Reihe von Impfungen in Bouillon mit 0,3 Proz., 0,6 Proz. und 0,9 Proz.  $\text{NaNO}_3$  aus und wiederholte dasselbe mit No. 3. Nach Verlauf von 24 Stunden waren alle Matras noch klar, nach 2 Tagen bemerkte man eine Trübung in den Pipetten mit

0,3 Proz.  $\text{NaNO}_2$  und Kultur No. 3, bei *B. pyocyaneus* war die Bouillon kaum opalisierend; am 3. Tage war bei No. 3 die Bouillon stark trübe und mit ziemlich starkem Schaum bedeckt, bei *B. pyocyaneus* war starke Trübung; am 5. Tage war in denselben Matras bei No. 3 alles  $\text{HNO}_2$  reduziert, bei *B. pyocyaneus* dagegen war die Bouillon grün gefärbt, aber die Reaktion auf  $\text{HNO}_2$ , noch stark, sie war sogar nach 20 Tagen noch nicht verschwunden. In der Bouillon mit 0,6 Proz. Nitritgehalt trat eine merkliche Trübung erst nach 5 Tagen ein, wobei Kultur No. 3 sich stärker trübte; bei *B. pyocyaneus* war die Trübung dagegen schwach und erschien in einigen Matras sogar überhaupt nicht, im Laufe der ganzen Zeit ließ sich keine Vermehrung in der Kultur beobachten. Endlich in der Bouillon mit 0,9 Proz. Nitrit entwickelten sich die Kulturen gar nicht. Es erweist sich also, daß durch solche große Quantitäten Nitrit, wie 3 g auf 1 l, die Entwicklung meiner Kulturen nicht gehemmt wird, im Gegenteil, bei No. 3 wird das ganze Quantum Nitrit in 5 Tagen vollständig reduziert; bei 6 g auf 1 l dagegen wird die Entwicklung fast unmöglich gemacht. Kultur No. 3 verträgt augenscheinlich leichter große Quantitäten Nitrit als *B. pyocyaneus*. Jedenfalls erweist es sich, daß man auch bei *B. pyocyaneus* eine hemmende Wirkung der Nitrite nicht voraussetzen kann, da er bei 0,3 Proz. Nitrit noch ausgezeichnet gedeiht, während er bei noch kleineren Quantitäten dieselben natürlich vollständig reduzieren würde. Parallel mit dem Natronsalze machte ich noch einige Versuche in Bouillon mit Kalinitrit. Der Vergleich ergab, daß auch hier das Kalisalz in größeren Mengen reduziert wird, als das Natronsalz, wobei nämlich 0,3 Proz.  $\text{KNO}_2$  vollständig reduziert werden sowohl von No. 3 als auch von *B. pyocyaneus*. In Bouillon mit 0,6 Proz.  $\text{KNO}_2$  gedeiht *B. pyocyaneus* nicht, während No. 3 diese Menge Nitritsalz vollständig zerstört. In Bouillon mit 0,9 Proz. wächst *B. pyocyaneus* natürlich nicht, was aber No. 3 betrifft, so gedeiht er zwar, aber nicht alles Nitrit wird denitrifiziert.

Um auf direktem Wege zu zeigen, daß bei der Sistierung der Gärungsthätigkeit der Kulturen die Verstärkung der Alkalinität eine Rolle spielt, führte ich folgende Versuche aus: Mehrere Matras, jede mit 20 ccm Bouillon versehen, enthielten zu 1,2 Proz.  $\text{NaNO}_2$ , zu einem Teil der Matras war No. 3 zugeimpft, zu einem anderen dagegen *B. pyocyaneus* und alle auf 10 Tage in den Thermostaten bei  $30^\circ \text{C}$  gestellt. Nach Verlauf dieser Zeit wurden alle Matras, mit Ausnahme der zur Kontrolle zurückgelassenen, mit sterilisierter verdünnter Phosphorsäure bis zu schwach alkalischer Reaktion versetzt (die Menge der dazu nötigen Phosphorsäure wurde durch vorläufige Versuche festgestellt) und nochmals 6 Tage stehen gelassen. In den Matras, die No. 3 enthielten, erschien nach der Neutralisation auf der Oberfläche der Bouillon von neuem Schaum. Nach diesen 6 Tagen wurde abermals neutralisiert und wiederum 6 Tage im Thermostaten stehen gelassen. Schaumbildung wurde nicht beobachtet. Nach Ablauf der letzten sechstägigen Frist wurden alle Matras einer Prüfung mit Diphenylamin und  $\text{H}_2\text{SO}_4$  unterworfen, wobei sich ergab, daß

alle Kontrollmatras starke Reaktion zeigten, während diejenigen, die vorher neutralisiert worden waren, keine Reaktion mehr mit Diphenylamin gaben. Aus diesen Thatsachen ergibt sich ohne Zweifel die hemmende Wirkung der angehäuften Alkalien; nach der Entfernung derselben durch Neutralisation nimmt der Denitrifikationsprozeß seinen Fortgang, was bei Kultur No. 3 schon äußerlich durch erneuertes Auftreten von Schaumbildung beobachtet werden kann.

Ich habe noch einige Worte über das äußere Ansehen der gärenden Flüssigkeiten hinzuzufügen, da in dieser Beziehung zwischen den hier beschriebenen Kulturen ein bedeutender Unterschied existiert. Neutrale Bouillon, welcher No. 3 beigemischt wurde, ist nach 24 Stunden schwach getrübt, nach 2 Tagen ist die Trübung schon bedeutend stärker, auf der Oberfläche erscheint eine reichliche, zusammenhängende Lage Schaum, im ferneren Verlauf beginnt der Schaum jedoch wiederum zu schwinden und die Bouillon wird heller; am Boden bildet sich ein geringer Niederschlag. Ein solches Bild wird erhalten, wenn die Impfung aus gärender, zweitägiger Nitratabouillon in der Menge eines Platinöhrs ausgeführt wurde; stammte das Impfmateriale dagegen von trockenem Nährsubstrat, d. h. war dasselbe, wie es sich in solchen Fällen voraussetzen läßt, in bedeutend größerer Menge genommen, so beobachtet man schon nach 24 Stunden eine starke Trübung und reichliche Schaumbildung, wobei aber die Intensität und die Schnelligkeit des Denitrifikationsprozesses dieselben bleiben, wie im ersten Falle. Unter dem Mikroskop beobachtet man nach 24 Stunden, bei noch schwacher Trübung der Bouillon dasselbe wie in gewöhnlicher Bouillon, aber nach 2 Tagen ändert sich das Bild entschieden und die ganze Kultur besteht einzig aus kurzen, zweigliederigen, sehr beweglichen Stäbchen, d. h. man enthält dasselbe Resultat, wie bei Kulturen auf harten Nährsubstraten. Bei *B. pyocyaneus* ist die Nitratabouillon nach 24 Stunden stark getrübt, nach zwei Tagen ebenso, am Boden befindet sich ein reichlicher Niederschlag, auf der Oberfläche bilden sich kleine Inselchen von Schaum, welcher gewöhnlich schon am dritten Tage verschwindet. Am 4.—5. Tage erscheint eine ziemlich starke braungüne Färbung, welche an den folgenden Tagen noch intensiver wird; die Bouillon verwandelt sich ungefähr nach 5 Tagen in eine zähe, schleimige Flüssigkeit. Unter dem Mikroskope haben die Stäbchen dieselbe Form wie in gewöhnlicher Bouillon. Solcher Art ist, in der Mehrzahl der Fälle, das Bild der Nitratabouillon während des Gärungsprozesses, obgleich Abweichungen davon nicht selten sind. Wenn man die Impfung nicht aus gärender Bouillon macht, sondern z. B. von Agar, so erscheint am ersten Tage ein zusammenhängender reichlicher Schaum. Zuweilen beobachtet man eine derartige reichliche Schaumbildung sogar bei der Impfung aus Bouillonkultur, und schließlich kann bei der letzteren Art von Impfung auch überhaupt keine Schaumbildung auftreten, nicht einmal in Form von Inselchen; sehr häufig wird die Bouillon auch nicht schleimig. Wenn sich auch starker Schaum gebildet hat, so ist er doch in jedem Falle weniger reichlich als bei No. 3, und verschwindet bedeutend schneller; die dunkelgrüne Färbung jedoch tritt jedesmal

ein. Eine solche Unbeständigkeit der äußeren Merkmale bei unserem Mikroorganismus wiederholt sich in gewissem Maße auch in betreff ihrer Denitrifikationsfähigkeit. Es ist schon früher bemerkt worden, daß 0,6 Proz. Nitrat ( $\text{NaNO}_3$ ) in äußerst verschiedenen Zeiträumen reduziert werden, und zwar im Zeitraume von 2—6 Tagen, es wurden ausnahmsweise sogar Fälle beobachtet, wo die angegebene Menge Nitrat noch nicht einmal nach 10 Tagen vollständig reduziert war. Worin die Ursache liegt, ist schwer zu sagen; aus einer Zusammenstellung aller dieser Abweichungen läßt sich kein bestimmter Schluß ziehen, so unzuverlässig und vom Zufall abhängig sind dieselben.

Zum Schlusse will ich noch die Frage berühren, wieweit bei den hier beschriebenen zwei Mikroorganismen die Reaktion der Nitrate überhaupt gehen kann. Da ich keine Apparate zur Verfügung hatte, um eine Gasanalyse auszuführen, die einzig imstande gewesen wäre, eine direkte Antwort auf die Frage zu geben, so war ich genötigt, auf indirektem Wege an die Lösung derselben heranzutreten, infolge dessen meine Auseinandersetzungen nicht als endgiltige Antwort aufgefaßt werden können. Nichtsdestoweniger liefern sie genügendes Material, um, in gewissem Grade wenigstens, ein Urteil zu fällen über die Tiefe des Reduktionsprozesses, welcher durch die angeführten Mikroorganismen hervorgerufen wird. Die Versuche wurden genau in derselben Art angestellt, wie sie von mir bei meinen Untersuchungen über die Lebensthätigkeit der Reinkulturen von Mikroorganismen aus Pferdemist (s. m. Artikel: Die im Mist vorkommenden Bakterien etc. d. Zeitschr. 1895) ausgeführt wurden, d. h. in kurzen Worten derart, daß durch einen Erlenmeyer'schen Kolben von 3 l Inhalt, jedesmal zu 200 ccm Fleischpeptonbouillon mit bestimmtem Zusatz von Nitrat enthaltend, ein ununterbrochener Luftstrom hindurchgesogen wurde; die sich aus der Bouillon entwickelnden  $\text{CO}_2$  und  $\text{NH}_3$  wurden mit Hilfe des Luftstromes aus dem Kolben herausgeführt und in entsprechenden Apparaten aufgefangen. Die Kolben mit der Bouillon befanden sich während der Versuche, von welchen jeder 5 Tage dauerte, im Wasserbade bei einer Temperatur von 30—35° C, die Impfungen wurden aus zweitägigen, in Gärung befindlichen Bouillonkulturen in der Menge von 0,5 ccm ausgeführt. Nach Beendigung eines jeden Versuches wurden in der Mehrzahl der Fälle von der ausgegorenen Bouillon je zu 100 ccm genommen und in denselben durch Destillation mit gebrannter Magnesia der Gehalt an  $\text{NH}_3$  quantitativ bestimmt.

Derartige Versuche mit der Kultur No. 3 wurden 7 an der Zahl ausgeführt, der 1. und 2. Versuch mit 0,6 Proz.  $\text{NaNO}_3$ , der 3. und 4. Versuch mit 0,3 Proz.  $\text{NaNO}_3$ , der 5. und 6. Versuch mit reiner Bouillon ohne Nitrat, der 7. Versuch endlich mit 0,6 Proz.  $\text{NaNO}_3$ , dabei aber ohne Aëration, d. h. die Bouillon wurde in einen Erlenmeyer'schen Kolben von 3 l Inhalt gegossen, sterilisiert, mit der Kultur geimpft und ins Wasserbad bei 30—33° C auf 5 Tage gestellt. Die Resultate der Versuche (nach Verlauf von 5 Tagen) waren folgende:

No. der Versuche	Menge des ausgeschiedenen $\text{CO}_2$ in g	Menge des ausgeschiedenen $\text{NH}_3$ in mg	In 100 ccm ausgegorener Bouillon $\text{NH}_3$ in mg	Reaktion mit Diphenylamin + $\text{H}_2\text{SO}_4$ mit Jodsinkstärke
1.	0,3600	2,5	nicht bestimmt	starke Reaktion mit Jodsinkstärke
2.	0,4084	0,8	17	keine Reaktion
3.	0,3400	0,5	nicht bestimmt	desgl.
4.	0,4076	0,5	17	desgl.
5.	0,4058	—	nicht bestimmt	—
6.	0,4104	—	12,5	—
7.	—	—	—	keine Reaktion

Beim 1. und 2. Versuche war am 2. Tage die ganze Oberfläche der Bouillon von dichtem Schaum bedeckt; beim 3. und 4. Versuche hatte der Schaum die Form von kleinen, einzelnen Inselchen. Nach Beendigung der Versuche zeigte die mikroskopische Prüfung, daß in der Nitratbouillon die Mikroorganismen die Form von kurzen Stäbchen hatten, in der Bouillon ohne Nitrat waren die Formen äußerst verschieden, angefangen von Mikrobakterien bis zu langen Spirillen; mißgestaltete und verzweigte Formen kamen fast gar nicht vor. Wie man daraus ersehen kann, hat die Aëration keinen Einfluß auf die Bildung von verzweigten Formen.

Beim Durchmustern der Tabelle ist leicht zu sehen, daß  $\text{NH}_3$  nicht das Endprodukt der Reduktion von Nitrat durch Kultur No. 3 vorstellt. Die Mengen von Nitrat, welche bei den Versuchen zur Anwendung kamen, hätten in den beiden ersten Fällen zu 240 mg  $\text{NH}_3$ , im 3. und 4. Fall zu 120 mg  $\text{NH}_3$  geben können, in Wirklichkeit aber wurden in den U-Röhrchen bloß minimale Mengen  $\text{NH}_3$  erhalten; bloß um ein geringes größer erwies sich diese Menge in der Bouillon selbst. Ein bedeutender Teil des  $\text{NH}_3$ , der in der Bouillon bestimmt wurde, entsteht ohne Zweifel aus der Bouillon selbst. So erwies es sich im 6. Versuch, bei welchem die Bouillon ohne Nitrat war, eine Menge von 12,5 mg  $\text{NH}_3$ , während beim 2. und 4. Versuche, in Gegenwart von Nitrat, 17 mg  $\text{NH}_3$  erhalten wurden, folglich bloß um 4,5 mg mehr, und sogar diese Menge läßt sich leichter als aus der Bouillon entstanden vorstellen, als aus dem Nitrat. Beim Hinzugeben von Nitrat erhöhen wir entsprechendweise die Zersetzung der organischen Substanz in der Bouillon, und mit diesem folglich auch die Menge des abgeschiedenen  $\text{NH}_3$ ; auch aus diesem Grunde muß der Unterschied von 4,5 mg auf Kosten der Bouillon übertragen werden. Mir scheint es aber, daß ein Teil dieser Menge dennoch auf Kosten des Nitrats gebracht werden kann. Für diese Voraussetzung spricht 1) die Beobachtung, daß bei den 4 Versuchen, bei welchen Nitrat vorhanden war, in den U-Röhrchen die Absorption, wenn auch in minimalen Mengen, von  $\text{NH}_3$  konstatiert wurde, während in den 2 Versuchen ohne Nitrat  $\text{NH}_3$  gar nicht ausgeschieden wurde. 2) Im 1. Versuche, in welchem nach Verlauf von 5 Tagen das Nitrat noch nicht vollständig zersetzt war, wurde eine starke Reaktion auf  $\text{HNO}_3$  konstatiert, was vollständig unerwartet kam, da, wie ich schon früher bemerkt habe, dieser Mikroorganismus niemals  $\text{HNO}_3$  bildete. Mit anderen Worten, diese 2 Umstände lassen die Voraus-



setzung zu, daß unter dem Einfluß der Aëration eine gewisse Abweichung im Verlaufe des Reduktionsprozesses eintritt; 1) wird er verlangsamt, und 2) bildet sich, augenscheinlich auf Kosten des Nitrats, eine kleine Menge  $\text{NH}_3$ . Ich hatte schon früher angeführt, daß von diesem Mikroorganismus 0,6 Proz.  $\text{NaNO}_3$  vollständig schon in 2—3 Tagen reduziert werden, und schon im 1. Versuch, wobei die Flüssigkeit variiert wurde, ist diese Menge sogar nach 5 Tagen noch nicht zerstört. Beim 2. ähnlichen Versuch war die Zerstörung vollständig; ein derartiger Unterschied muß augenscheinlich am ehesten durch die Verschiedenheit in der Stärke der Aëration erklärt werden; die Schnelligkeit des hindurchgehenden Luftstromes wurde von mir willkürlich, nach Augenmaß, reguliert, und es ist möglich, daß beim 2. Versuch die Luft langsamer hindurchgesogen wurde, was sich auch im Verlauf des Reduktionsprozesses äußerte, um so mehr, da die Aëration bloß oberflächlich und ziemlich hoch über der Oberfläche der Bouillon ausgeführt wurde. Daß durch die Aëration der Denitrifikationsprozeß verlangsamt wird, ist schon mehr als einmal konstatiert worden. In der allerletzten Zeit führt M. P. Dehé-  
rain in seiner Arbeit „Recherches sur la réduction des nitrates“<sup>1)</sup>, Versuche an, in welchen gezeigt wird, daß energisch durchgesogene Luft den Verlauf der Reduktion bedeutend aufhält. Die denitrifizierenden Kulturen, welche von Stutzer und Burri isoliert worden waren, sind ebenfalls empfindlich gegen Aëration in derselben Beziehung; sogar 2 symbiotische Arten, welche von diesen Forschern als aërobe Denitrifikatoren behandelt wurden, werden nach den Untersuchungen von Stutzer und Maul in ihrer reduktiven Thätigkeit unter dem Einflusse der Aëration merklich geschwächt. Was nun das Erscheinen von  $\text{NH}_3$ , auf Kosten des Nitrates, unter dem Einflusse der Aëration betrifft, so spricht für diese Voraussetzung besonders der 1. Versuch, d. h. der Versuch, bei welchem die Aëration sich am stärksten geäußert hatte; gleichzeitig mit unvollständiger Zersetzung des Nitrates und Auftreten von salpetrigsaurem Salz war die Menge des ausgeschiedenen  $\text{NH}_3$  bedeutend größer als in den übrigen Versuchen. Eine in gewissem Grade ähnliche Beobachtung wird von Egunoff angeführt in seiner Arbeit, welche ich schon am Anfang erwähnt habe. Beim Kultivieren seines Mikroorganismus im künstlichen mineralischen Nährsubstrat, welches im Kölbchen eine bloß einige Millimeter dicke Schicht bildete, beobachtete er die Ausscheidung von  $\text{NH}_3$ ; wurde aber die Dicke der Nährsubstratschicht um mehr als 1 cm erhöht, so hörte die Bildung von  $\text{NH}_3$  auf und es begann die Elimination von Bläschen freien Stickstoffs. Mit anderen Worten, je nachdem in welchem Grade, der Luftzutritt erleichtert oder erschwert wird, findet die eine oder die andere Art Reduktion statt.

Aus allem Gesagten sieht man, daß der Mikroorganismus No. 3 die Nitrate bis zu einer tiefen Stufe zerstören kann; ein Teil des Stickstoffes wird wahrscheinlich zur Bildung von organisch gebundenem N verbraucht, eine höchst geringe Menge wird, bei schwacher oberflächlicher Aëration, zur Bildung von  $\text{NH}_3$  benutzt; der allergrößte

1) Annales agronomiques. 1897. No. 2.

Teil des Stickstoffes aus dem Nitrat dagegen wird augenscheinlich in Form von freiem N ausgeschieden, oder als freier N mit einiger Beimischung von Sauerstoffverbindungen desselben.

Bei diesen Versuchen muß noch auf den Umstand hingewiesen werden, daß die Menge des frei werdenden  $\text{CO}_2$  bei allen Versuchen fast ein und dieselbe war, d. h. ungefähr 0,4 g. Auf diese Art erweisen sich diese beständig erscheinenden 0,4 g bloß als Resultat der Oxydationsthätigkeit der betreffenden Mikroorganismen in der Bouillon; die fernere Oxydation der Bouillon befindet sich in voller Abhängigkeit von der Menge der in ihr sich befindenden Nitrates; soviel das Nitrat O enthält, soviel wird aus der Bouillon C genommen zur Bildung von  $\text{CO}_2$ ; bei der Reduktion des Nitrates wird N frei in gasförmiger Gestalt, an seine Stelle tritt C, und es bildet sich kohlen-saures Alkali, die Menge der freien  $\text{CO}_2$  bleibt immer ein und dieselbe, d. h. 0,4 g, gleichviel, ob die Bouillon Nitrat enthält oder nicht. Bei dem angeführten Austausch von Elementen bleibt höchst-wahrscheinlich ein Teil der  $\text{CO}_2$  im ungebundenen Zustande, und wird in solchem Falle augenscheinlich zur Bindung des in der Bouillon gebildeten  $\text{NH}_3$  benutzt.

Mit *B. pyocyaneus* wurden 4 derartiger Versuche ausgeführt; der 1. und 2. Versuch mit 0,7 Proz.  $\text{KNO}_3$ , der 3. mit 0,3 Proz.  $\text{KNO}_3$  und der 4. mit 200 ccm Bouillon ohne Nitrat. Es wurden folgende Resultate erhalten:

No. des Ver-suches	Menge der aus-geschiedenen $\text{CO}_2$ in g	Menge des aus-geschie-denen $\text{NH}_3$ in g	In 100 ccm ausgegorener Bouillon $\text{NH}_3$ in mg	Reaktion mit Diphenylamin und $\text{H}_2\text{SO}_4$ mit Jodzinkstärke
1.	0,6176	1,8	68	starke Reaktion mit Jodzinkstärke
2.	0,7172	0,5	—	keine Reaktion
3.	0,7446	0,5	52	—
4.	0,5450	—	36	—

Die Resultate dieser Versuche stimmen vollkommen mit denen überein, die mit der Kultur No. 3 erhalten wurden, infolgedessen auch die Folgerungen aus denselben dieselben sein müssen.  $\text{NH}_3$  bildet sich auf Rechnung der Bouillon, obgleich kleine Mengen desselben wahrscheinlich ebenfalls auf Rechnung der Nitrates entstehen, infolge des Aërationsprozesses, der Hauptsache nach wird aber der N des Nitrates im freien Zustande ausgeschieden oder mit Beimengungen von Stickstoffsauerstoffverbindungen. Folglich geht der Reduktionsprozeß der Nitrates durch *B. pyocyaneus* ebenso tief wie bei No. 3. Eine oberflächliche Aëration verlangsamt den Reduktionsprozeß. Wie schon oben angegeben wurde, zerstört gewöhnlich *B. pyocyaneus* 0,7 Proz.  $\text{KNO}_3$  vollständig in 7 Tagen, während beim 1. Versuche in derselben Zeit das Nitrat noch nicht vollständig zersetzt war.

Im Vorhergehenden habe ich die Resultate meiner Erfahrungen über die angeführte Frage darzulegen versucht. Es unterliegt keinem Zweifel, daß Bouillonkulturen, ihrer komplizierten chemischen Zusammensetzung wegen, ein nicht sehr zuverlässiges Material zur

genaueren Lösung derartiger Fragen liefern können, weswegen es notwendig erscheint, Versuche mit den betreffenden Kulturen in künstlichen mineralischen Lösungen anzustellen. *B. pyocyaneus* stellt in dieser Beziehung kein Hindernis dar, während die ersten Versuche, den Mikroorganismus No. 3 in mineralischer Lösung zu kultivieren, bis jetzt ohne Erfolg geblieben sind. Bei meinen weiteren Versuchen beabsichtige ich noch, die Frage zu berühren über die Fähigkeit dieser Kulturen, die Reduktion bei streng anaëroben Verhältnissen zu führen. Meine ersten Versuche in dieser Beziehung zeigten, daß beide Kulturen in einer Wasserstoffatmosphäre energisch die Nitrate zerlegen. Auf diese Art erscheinen beide Mikroorganismen als nicht wünschenswerte Bewohner sowohl des Bodens als auch des Düngers. Als Endprodukt ihrer denitrifikatorischen Thätigkeit liefern sie erstens Elemente, die von Pflanzen nicht assimiliert werden, und infolgedessen geht ein so wertvolles Nährmaterial, als die Nitrate es sind, für die letzteren unwiederbringlich verloren; und ferner äußern sie ihre für den Landwirt so schädliche denitrifikatorische Thätigkeit sowohl bei Luftzutritt, als auch ohne dieselbe. Trotz alledem läßt sich von aëroben Denitrifikationsbakterien im strengen Sinne des Wortes nicht reden, da die Aërierung den Denitrifikationsprozeß merklich hindert, und aus dem Grunde — wenn die Denitrifikationsmikroorganismen in der That ihre Thätigkeit im Boden äußern — gelangt man zu dem für den Landwirt praktisch ausführbaren Schlusse, der übrigens schon früher ausgesprochen worden ist, daß noch eine gründliche Bearbeitung des Bodens übrig bleibt, und mit der letzteren eine tüchtige Aëration desselben, die wenigstens in gewissem Grade den Landwirt vor Verlusten durch ein so wertvolles Material, wie die Nitrate sind, sicherstellen können. Außerdem läßt es sich auf Grund des früher Gesagten voraussetzen, daß sogar der Verlauf der Reduktion unter dem Einfluß der Aëration in gewissem Maße zum Nutzen des Landwirtes gelenkt werden kann; es wird nämlich  $\text{NH}_3$  gebildet, von welchem man noch hoffen kann, daß er mit Hilfe von nitrifizierenden Organismen von neuem bis zu seinem Ausgangsprodukte, d. h. bis zum Nitrat, sich oxydieren kann. Dabei haben in der allerletzten Zeit die Untersuchungen von Dehérain, im Gegensatz zu den Versuchen von Wagner, gezeigt, daß im Boden, sogar bei der Düngung desselben mit Stalldünger, aber nur in normalen, in der Landwirtschaft allgemein gebräuchlichen Mengen, eine Reduktion der Nitrate durchaus nicht zu befürchten ist, da dieselbe hier nicht stattfindet, weswegen unsere Befürchtungen über den Verlust von Nitraten vom Boden auf den Dünger selbst übertragen werden müssen. In diesem Falle läßt sich von einer Aëration natürlich nicht reden, ganz ebenso wie vorläufig von einer Desinfektion, im agronomischen Sinne, von Düngerhaufen durch Säuren nicht die Rede sein kann. Wie soll man erstens Tausenden von Kilogramm des massigen Düngematerials einen Säuregrad geben, welcher instande wäre, die denitrifikatorische Thätigkeit der Mikroorganismen zu unterdrücken und zweitens, wenn dieses auch möglich wäre, wann sollte es denn angewandt werden? Wenn beim Beginn der Düngergärung, wo wäre dann die Garantie, daß der Dünger nicht zur toten, inerten Masse wird, für den Landwirt fast

wertlos? Der Säuregehalt würde die Lebensthätigkeit der Denitrifikationsmikroorganismen unterdrücken, er würde aber auch die Lebensthätigkeit der gesamten bakteriellen Thätigkeit des betreffenden Düngerhaufens unterdrücken. Würde man schließlich das Ansäuern spät vornehmen, vor Ausfuhr des Düngers aufs Feld, so wäre dies schon ganz vergebens, da zu dieser Zeit die Denitrifikationsbakterien schon alles gethan haben werden, was sie zu thun imstande sind.

Moskau, 15. Mai 1897.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Morphologie der Blastomyceten.

[Aus dem Botanischen Institut der Kgl. Universität Catania.]

Von

Dr. O. Casagrandi.

Unsere Kenntnis der Blastomyceten weist, was die Morphologie anlangt, noch recht viele dunkle Punkte auf. Dies kommt daher, daß einestheils die Ansichten der Botaniker über diese Organismen recht weit auseinandergehen, anderenteils gerade die Morphologie derselben einigermaßen vernachlässigt wurde, weil die Physiologie dieser pflanzlichen Gebilde eine größere Anziehungskraft auf die Untersucher ausübte.

Heutzutage haben indessen die Blastomyceten nicht nur auf dem Gebiete der reinen Physiologie, sondern auch auf dem der Pathologie eine solche Bedeutung gewonnen, daß eine bessere Kenntnis ihrer Morphologie sich als eine Notwendigkeit herausgestellt hat, und das um so mehr, als man bei dem Bestreben, eine richtige Deutung der einzelnen Bestandteile der Blastomycetenzone zu gewinnen, recht häufig auf ungenaue Angaben stößt.

### I. Ueber die Membran der Blastomyceten.

#### A n a t o m i e.

Die schon im frischen Zustande sichtbare Membran, welche den protoplasmatischen Inhalt der Blastomyceten umgiebt, erscheint als ein hyaliner, etwas glänzender Kreis, welcher bei jungen Zellen und solchen, welche in Knospung begriffen sind, nur sehr dünn ist, indem seine Wand kaum mehr als wenige Zehntel eines Mikron erreichen kann. Bei alten Zellen, oder solchen, welche sich in ungünstigen Lebensbedingungen befinden, oder in denen das Bildungsmaterial der Membran zunimmt, ist diese ziemlich dick, und ihr Durchmesser kann verschiedene Mikron erreichen.

Durch verschiedene Reagentien kann man bewirken, daß diese Membran sich recht deutlich im Präparate abhebt. Es wird dies erreicht durch Zusatz von Salzsäure und Schwefelsäure im verdünnten Zustande, durch eine verdünnte wässrige Lösung von Kali, Eau de

Javelle, 2-proz. Essigsäure, verdünnte wässerige Lösung von Pikrinsäure, durch Verdauung mit salzsaurem Pepsin, länger anhaltendes Kochen u. s. w. Noch größer wird ihre Deutlichkeit, wenn man den Inhalt der Zellen färbt, und zwar, wenn möglich, mit Anilinfarben, wie Fuchsin, Gentianaviolett, Methylenblau, Safranin. -

Die Struktur der Membran ist jedoch nicht so einfach, wie man wohl zuerst glauben möchte. In der That, wenn man, wie Will (1) es gethan hat, ruhende Blastomycetenzellen, besonders solche aus Kulturen, welche man hat alt werden lassen, in Betracht zieht, so kann man nicht selten beobachten, wie die Membranen dieser Zellen eine konzentrische Streifung aufweisen, eine Streifung, welcher eine wirkliche Schichtung zu Grunde liegt. Allein es kann noch nicht als ausgemacht gelten, wie groß die Zahl dieser Schichten ist. Will unterscheidet zwei, sagt jedoch, daß es manchmal den Anschein hat, als ob die Membran aus mehreren Lamellen zusammengesetzt sei.

Ich kann nun, in vollkommener Uebereinstimmung mit Will, sagen, daß ich nicht nur an der Membran von in Kulturen gealterten Blastomyceten, sondern auch bei jungen Zellen, besonders wenn sie eine dicke Membran besaßen, deutlich eine äußere und eine innere Schicht, und in letzterer wieder Spuren einer weiteren konzentrischen Streifung beobachten konnte. Nach Zusatz von gewissen Reagentien konnte ich auch noch zwischen den beiden ebengenannten Schichten eine Mittelschicht unterscheiden, welche sich deutlich genug erkennen ließ, und welche nicht etwa als ein Zwischenraum aufgefaßt werden konnte, der sich event. durch das Auseinanderweichen der äußeren und inneren Schicht gebildet hatte. Man müßte daher eigentlich nicht nur von zwei, sondern von drei und vielleicht auch mehr Schichten sprechen.

Diese Schichtung kann man mit Hilfe einiger Reagentien deutlich zur Erscheinung bringen. Man erreicht diesen Zweck mit 1-proz. Osmiumsäure, der Flüssigkeit von Repart und Petit, 1-proz. Chromsäure und Salzsäure, wie sie von Will vorgeschlagen wurden. Man läßt diese Reagentien lange Zeit, tage- und wochenlang, auf die Blastomyceten einwirken und wählt am besten solche, welche sich vorher in für ihre Entwicklung wenig geeigneten Nährböden, z. B. auf Gypsblöcken in der feuchten Kammer, aufgehalten haben. Es treten in solchen Fällen an der Stelle, wo die äußere und innere Schicht auseinanderweichen, sackartige Gebilde auf. Man kann bei Anwendung dieser Mittel auch beobachten, wie die äußere Schicht zerreißt und dann kappenartig die noch von der inneren Schicht eingeschlossene Blastomycetenzone bedeckt. Denselben Vorgang kann man durch Druck auf das Deckgläschen, wie Will vorschlägt, herbeiführen.

Es ist wohl zu beachten, daß man diese Schichtung auch in den Fällen sichtbar machen kann, in denen sie auf den ersten Blick nicht vorhanden zu sein scheint, und zwar sowohl bei den ruhenden Zellen, bei welchen die Membran eine gewisse Dicke erlangt, als auch bei jungen Zellen, wo sie außerordentlich dünn ist. Bei den ruhenden Zellen erreicht man dieses durch aufeinanderfolgende Behandlung mit Alkohol, Aether und Chloroform, Alkohol und Chlorzinkjod. Nach

einer solchen kann man dann nicht selten in der ungefärbten Membran, welche sich von dem gelben Plasma abhebt, diese doppelte und auch dreifache Schichtung wahrnehmen. Junge Zellen behandelt man zu diesem Zwecke mit mäßig verdünnter (nicht stärker als 6-proz.) Salzsäure, entwässert sie darauf und färbt in der Wärme mit Jodgrün und Fuchsin nach der Methode von Strasburger (2). Man sieht dann, daß nur an der äußeren Peripherie der Membran sich eine ganz dünne Schicht rötlich-violett gefärbt hat, während der übrige Teil farblos geblieben ist.

Was die Möglichkeit einer Durchsetzung der Membran mit Poren anlangt, wie sie Bizzozero (3) in den Formen, die er in der Haut gesunder Menschen fand, beobachtete, so kann ich diesen Befund nicht bestätigen. Im Gegenteil, ich bin der Ansicht, daß das siebförmige Aussehen, welches Bizzozero der inneren Schicht der Membran zuschreibt, gar nicht der Membran selbst zukommt, sondern vielmehr der äußeren Schicht des protoplasmatischen Inhaltes, welche sich in den zwischen den Körnchen gelegenen Teilen färbte. Man kann sich auch gar nicht darüber wundern, daß man bei den Saccharomyceten, wenn man sie so behandelt wie Bizzozero, den Eindruck eines Siebes erhält, denn die Anordnung der Körnchen ist bei manchen dieser Organismen derartig regelmäßig, daß sie recht gut einen solchen Eindruck hervorrufen kann. Man wird verstehen, wie das möglich ist, wenn man sich der Anordnung in parallele und parietale Fäden bezüglich der Membran erinnert, wie sie von Hieronymus (4) beschrieben und auch von mir beobachtet wurde. Im übrigen möchte ich bemerken, daß das Methylenblau nicht dazu geeignet ist, die beiden Schichten in der Membran der Blastomyceten unterscheiden zu lassen, es färbt sie vielmehr ganz und gar. Ferner ist zu erwähnen, daß Bizzozero außerhalb der Siebschicht eine ungefärbte Schicht beschreibt; es unterliegt keinem Zweifel, daß diese die eigentliche Membran vorstellt, welche sich nicht gefärbt hat<sup>1)</sup>.

Einer anderen Erscheinung endlich in Bezug auf die Membran der Blastomyceten müssen wir gedenken, nämlich derjenigen, daß an bestimmten Punkten dieser Membran häufig Eindrücke zu beobachten sind, und daß an diesen Stellen ein enger Zusammenhang zwischen ihr und dem Protoplasma besteht. So kommt es, daß wenn man Blastomyceten mit konzentrierter wässriger Lösung von Pikrinsäure oder besser noch mit Osmium-Essigsäure behandelt, man an diesen Stellen das Protoplasma an der inneren Schicht der Membran anhängend findet, während es sich an den übrigen abgehoben und zusammengezogen hat, so daß der ganze protoplasmatische Inhalt eine unregelmäßige Figur, z. B. eine sternförmige, eckige u. s. w., aufweist. Sicherlich entsprechen diese Punkte der Adhäsion den Narben, welche sich infolge der Abschnürungen von Knospen gebildet haben.

1) Die Erscheinungen, welche Bizzozero beschreibt, treten auch an nicht gefärbten Blastomycetenzellen auf, wenn man sie längere Zeit mit Alkohol, Aether und Chloroform behandelt. Man glaubt dann an der inneren Seite der Membran eine siebförmige Durchlöcherung zu beobachten; diese Erscheinung eines Siebes wird aber nur durch die von Körnchen freien Stellen des Protoplasmas hervorgerufen und hat mit der inneren Schicht der Membran nichts zu thun.

### Mikrochemie.

Die Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der Membran der Blastomyceten erwies sich nicht frei von Schwierigkeiten. Im Folgenden will ich mitteilen, was mir gelungen ist zu beobachten, indem ich mich verschiedener Reihen mikrochemischer Reagentien bediente. Einesteils wendete ich Jod enthaltende Reagentien an, andernteils diejenigen Flüssigkeiten, welche als Färbemittel der pflanzlichen Membranen zum Nachweise der Cellulose oder anderer Bestandteile dieser Membranen in Gebrauch sind, und endlich nahm ich verschiedene Reaktionen vor, welche den Zweck hatten, die Widerstandsfähigkeit, die Löslichkeit oder Unlöslichkeit u. s. w. der Membranen zu erforschen.

1) Behandlung der Membran mit jodhaltigen Reagentien. Wurde die Membran der Blastomyceten mit Jodtinktur, Chlorzinkjod, Jodphosphorsäure behandelt, so trat keine Violettfärbung bei ihr ein, sondern nur einige Male eine strohartige Färbung. Diese letztere war jedoch kaum wahrnehmbar, und ich kann ihr keinen besonderen Wert beimessen, da sie zum Teil von der Gelbfärbung herrühren konnte, welche diese Reagentien in dem ganzen mikroskopischen Gesichtsfelde hervorrufen. Nur ein einziges Mal färbte das Chlorzinkjod, nach vorheriger Behandlung mit Alkohol und Aether, die Membran wirklich gelb, und zwar intensiver in den inneren als in den äußeren Schichten. Aber auch dieser Färbung kann ich, z. B. für den Nachweis des Vorhandenseins von Eiweißstoffen in der Membran, gar keinen besonderen Wert zuschreiben, weil in demselben Falle das Millon'sche Reagens ein negatives Resultat ergab.

Das Ausbleiben der Cellulosereaktion war ein beständiges, auch wenn die Blastomyceten mehr oder weniger lange mit ganz verschiedenen Säuren (Schwefel-, Salz-, Salpeter- und Essigsäure) oder Alkalien (Kali, Natron) oder sonstwie (mit heißem Wasser mehrere Stunden, mit kaltem Wasser viele Tage lang, mit absolutem Alkohol, Aether, Chloroform, kalter und warmer Schultze'scher Mischung, künstlichem Verdauungssaft u. s. w.) behandelt wurden.

Dieses Resultat würde sich nun aber nicht mit dem in Uebereinstimmung befinden, welches unlängst Curtis (5) mit einem Blastomyceten erhalten hat, den er aus einer Neoplasie isoliert hatte. Er will durch Behandlung dieses Blastomyceten mit Chlorzinkjod eine weinviolette Färbung erhalten haben, wie sie für die Cellulose charakterisiert ist. Wenn man nun nicht annehmen will, daß der Curtis'sche Blastomycet im Leben eine Ausnahme von den übrigen Blastomyceten macht, so muß man mindestens den Verdacht hegen, daß der Verf. zu diesem Schlusse gelangt ist, ohne über das, was er beobachtete, ernstlich nachzudenken. Dies muß aber wirklich stattgefunden haben, und zwar sprechen dafür folgende Gründe: Wenn man die Blastomyceten mit Chlorzinkjod, oder mit Jodtinktur oder mit einer Jodjodürlösung von Lugol behandelt, so gewahrt man, auch wenn man mit starken Trockenlinsen beobachtet, nicht immer, jedoch sehr häufig, daß die Zellen an der Peripherie von einem dunklen Ringe begrenzt werden, der bei flüchtiger Be-

obachtung in der That von manchen für den Ausdruck der bekannten Cellulosereaktion gehalten werden könnte. Es genügt indessen die Anwendung starker Vergrößerung durch eine Immersionslinse, um außerhalb dieses Ringes eine ungefärbt gebliebene oder doch nur leicht strohgelb gefärbte Membran erkennen zu lassen. Aber noch mehr. Behandelt man die Blastomyceten mit Eau de Javelle, damit das Plasma möglichst zum Verschwinden gebracht und die Membran allein sichtbar wird, so kann man nach der Behandlung mit Chlorzinkjod u. s. w. auch mit Trockenlinsen diesen dunklen Ring nicht mehr beobachten. Die Membran erscheint dann vollkommen ungefärbt, oder höchstens von einer leicht gelblichen Farbe.

Im übrigen müßten, wenn wirklich die Blastomyceten eine Cellulosemembran besäßen, die mit Chlorzinkjod oder auf andere Weise durch Jodverbindungen darstellbar wäre, alle Zellen in dem mikroskopischen Gesichtsfelde, besonders bei schwacher Vergrößerung, als runde oder eiförmige, vollständig mehr oder weniger stark violett gefärbte Körper erscheinen, was aber niemals der Fall ist.

Uebrigens will ich mich hier nicht weiter mit dieser Frage beschäftigen, da sie an und für sich klar ist. Höchstens könnte man noch anführen, daß man bei derartigen mikrochemischen Untersuchungen zwischen wirklichen Blastomycetenzellen und Sporen unterscheiden muß. Letztere besitzen nämlich eine Membran, welche mit Chlorzinkjod eine mitunter stark gelbbraune Farbe annimmt, über deren Deutung man streiten kann. Es ist möglich, daß in gewissen Fällen eine Schleimsubstanz an dem Aufbau der Membran teilnimmt, aber es kann auch sein, daß das Protoplasma sich daran beteiligt, so wenigstens behauptet Hansen (6).

2) Behandlung der Membran mit Färbemitteln. Die Untersuchungen mit Färbemitteln habe ich in zwei Gruppen eingeteilt.

1) Untersuchungen mit Farbstoffen, welche zum Nachweise oder doch wenigstens zur Andeutung des Cellulosegehaltes der pflanzlichen Membran dienen.

2) Untersuchungen mit solchen Farbstoffen, welche zwar vom mikrochemischen Standpunkte aus nicht den Wert und die diagnostische Bedeutung wie die der ersten Gruppe haben, aber dennoch zu den gebräuchlichsten Flüssigkeiten gehören, mit denen die verschiedenartigsten Bestandteile der pflanzlichen und tierischen Gewebe gefärbt werden.

1. Gruppe. Die von mir angewendeten Färbemittel waren folgende:

a) Rocellin und Crocein, wovon Lösungen nach der Vorschrift von Mangin (7) in einer sauren Lösung hergestellt wurden, ließen die Membran beständig ungefärbt.

b) Congoroth, ebenfalls nach der Vorschrift von Mangin (7), in alkalischer Lösung, ließ die Membran gleichfalls ungefärbt.

c) 14-proz. Hämatoxylin, welches Giltay (8) zur Färbung der noch nicht verholzten und in Kork umgewandelten Cellulose vorschlägt, gab ebenfalls ein negatives Resultat.

d) Congoroth, nach vorhergehender Behandlung mit schwacher Salzsäure und Kupferoxydammoniak, gemäß den Vorschriften Strasburgers, gab desgleichen ein negatives Resultat.



2. Gruppe. Es kamen folgende Färbemittel zur Anwendung:

a) Karminlösungen. Mit keiner von ihnen färbte sich die Membran. Ich muß freilich zugeben, daß ich kein besonderes Gewicht auf sie gelegt habe, was vielleicht wohl nicht ganz unnütz gewesen wäre, da es Fermente giebt, welche unter gewissen Bedingungen (innerhalb von Geweben) die Fähigkeit haben, Lithiumkarmin, wenn auch nur in geringen Mengen, aufzunehmen, wie es kürzlich von Sanfelice (9) beobachtet wurde.

b) Anilinfarbstoffe. Von diesen färbten viele die in Frage stehende Membran nicht, andere wieder thaten es. Ich unterlasse es hier, alle die vielen Versuche, welche ich mit wässerigen, alkoholischen, wässerigalkoholischen, karbolsauren, alkalischen, anilinwässerigen Lösungen angestellt habe, der Reihe nach aufzuzählen. Ich fasse mich kurz dahin zusammen, daß ich mit essigsauerm Methylgrün, Karbol-Safranin, Karbol-Fuchsin, Natron-Coralin, alkoholisch-wässrigem Anilinblau, Strasburger'schem Pikroanilin, alkoholisch-wässrigem Methylenblau, Löfflerian (besonders nach den Angaben Ehrlich's), Hanstein'schem Anilinviolett, Malachitgrün und Safranin (nach Sanfelice), Jodgrün und Fuchsin (nach Strasburger) gewisse Resultate gehabt habe.

Diese verschiedenen Farbstoffe habe ich auf lebende und tote Blastomyceten einwirken lassen. Niemals habe ich diese jedoch dabei durch Antrocknen in der Luft oder durch Hitze auf dem Objektträger oder dem Deckgläschen fixiert, denn, weil es sich hier um mikrochemische Reaktionen handelte, mußten alle möglichen Fehlerquellen nach Möglichkeit vermieden werden<sup>1)</sup>.

Es ergab sich, daß die geeignetsten Farbstoffe zur Färbung der Membran in den nicht ausgetrockneten Präparaten das Methylenblau nach Ehrlich und das Hanstein'sche Anilin sind, und zwar muß man diese lange Zeit einwirken lassen. Man kann die Färbung auch beschleunigen, wenn man die Blastomyceten vorher mit einer mäßig konzentrierten Säure, z. B. 2-proz. Essigsäure und bis 6-proz. Salzsäure, behandelt. Es empfiehlt sich in solchen Fällen, die Säure lange Zeit einwirken zu lassen und dann nach der Entsäuerung die Färbelösung in warmem Zustande anzuwenden. Ich gab deshalb gewöhnlich das Material von Blastomyceten in ein Gläschen, setzte Säure hinzu und ließ diese 12—48—60 Stunden lang einwirken. Dann wurde die Säure dekantiert, wiederholt destilliertes Wasser zugesetzt und wieder dekantiert, mehrere Tage lang, bis sich blaues Lackmuspapier in der Flüssigkeit nicht mehr rötete. Hierauf setzte ich den Farbstoff zu, erhitzte bis zum Aufwallen, ließ nach 30 bis 50 Sekunden absetzen und untersuchte das Präparat. Waren noch einige Zellen ungefärbt, so ließ ich den Farbstoff noch kalt länger einwirken und erzielte so nach und nach auch endlich die Färbung dieser.

Auf diese Weise erhielt ich, besonders mit dem Methylenblau

1) Ich muß aber, um der Wahrheit die Ehre zu geben, sagen, daß man nach der gewöhnlichen Fixierung über der Flamme, sehr oft, z. B. mit Karbol-Safranin oder besser noch mit Karbol-Fuchsin, eine Färbung der Membran mit ziemlicher Leichtigkeit erhalten kann.

nach Ehrlich und dem Hanstein'schen Anilin, eine intensive Färbung der Membranen aller Fermentzellen. Häufig erhielt ich mit Karbol-Safranin und Karbol-Fuchsin, desgleichen mit Jodgrün und Fuchsin nach Strasburger, eine Färbung der äußeren Schicht der Blastomycetenzellen. Was die übrigen von mir angewendeten Anilinfarbstoffe anlangt, so verliehen sie der Membran eine kaum wahrnehmbare Färbung. Ich will daher nur noch erwähnen, daß mit essigsäurem Methylgrün, wenn es in einer Menge von 1 ccm zu 25 ccm Kulturflüssigkeit zugesetzt wurde, die Membran der lebenden Blastomyceten, wenn auch nur sehr blaß, gefärbt wurde.

2) Behandlung der Membran mit verschiedenen Reagentien. — Die Reagentien, welche ich auf die Membran der Blastomyceten einwirken ließ, bestanden in Säuren, Alkalien, Verdauungsflüssigkeiten, Beizmitteln u. s. w.

a) Säuren. Diejenige Säure, welche am besten und schnellsten die Membran auflöst, ist die konzentrierte Chromsäure. Ihre Wirkung nimmt bis zur Verdünnung auf 50 Proz. immer mehr ab und hört bei einer Stärke von 10 Proz. ganz auf. Nach ihr kommt konzentrierte Schwefelsäure, welche zuerst die Membran aufhellt, dann allmählich so durchsichtig macht, daß sie in einen kaum sichtbaren Ring verwandelt wird, welcher einen centralen Klumpen, den Rest des Protoplasmas, umgiebt. Dieser Ring platzt dann und verschwindet oder er verschwindet auch vollkommen, ehe er platzt. Man kann diesen letzteren Vorgang besonders gut beobachten, wenn man vorher die Blastomycetenzellen mit Jodtinktur behandelt; es färben sich dann nämlich die Körnchen des Protoplasmas gelb, und ihre Zerstreuung beim Auflösen der Membran wird daher recht augenfällig. Ist die Säure nicht konzentriert, so treten diese Erscheinungen nicht ein; einer 6-proz. Säure widersteht die Membran sehr gut.

Was die anderen Säuren, wie Salzsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure, Essigsäure, Osmiumsäure und Oxalsäure, anlangt, so lösen sie die Membran nicht, wie konzentriert sie auch sein mögen. In konzentrierter Salzsäure bläht sich die Membran auf, und es kann sich auch, zumal bei alten Blastomyceten und solchen, welche eine sehr dicke Membran haben, die äußerste Schicht ablösen, wie Will(1) es beobachtete. In einer 6-proz. und noch stärkeren Verdünnung ist sie wie die Schwefelsäure, ja noch besser als diese, für das Studium des Verhaltens der Membran gegen die später angewendeten Färbmittel dienlich. Ihre Einwirkung darf sich zu diesem Zwecke aber nicht auf kurze Zeit erstrecken, sondern muß lange andauern. Man darf überhaupt bei der Behandlung der Blastomyceten mit Reagentien zu mikrochemischen Zwecken keine zu große Eile haben, sondern muß Stunden, ja auch Tage warten, bis die Flüssigkeiten ordentlich eingewirkt haben; andernfalls läuft man Gefahr, zu Schlüssen zu kommen, welche der Wirklichkeit nicht entsprechen, wie es z. B. mit Curtis der Fall gewesen ist. Fermi(9 b) hat neuerdings untersucht, wie sich verschiedene Blastomyceten verschiedenen Reagentien gegenüber verhalten, und hat gefunden, daß sie z. B. bei Behandlung mit 2-proz. Salzsäure 5 Tage lang, in Salzsäure und Pepsin 10 Tage lang, und einige noch länger als 10 Tage in Salzsäure, Pepsin und Zucker lebten.

Mit Salpetersäure, Essigsäure und Oxalsäure erhält man nur eine Aufhellung der Membran, oder wenn man so will, besonders mit Salpetersäure und Essigsäure, eine leichte Quellung. Durch konzentrierte Phosphorsäure wird sie durchsichtig gemacht und verliert schließlich jede Deutlichkeit der Kontur, indem sie von dem in eine homogene Masse ungewandelten Protoplasma sich nicht mehr unterscheiden läßt. Bei Behandlung mit 1-proz. Osmiumsäure hebt sich auf lange Zeit die äußere Schicht der Membran von der inneren ab, und zwar sehr viel deutlicher (falls die Zellen überhaupt sich dazu eignen) als bei der Einwirkung konzentrierter Salzsäure.

b) Alkalien. Von den Alkalien ruft Ammoniak gar keine Veränderung an der Membran hervor, welche der Erwähnung wert wäre. Kali und Natron lassen sie in mäßiger Verdünnung, und zwar sowohl in wässriger als alkoholischer Lösung, quellen, hellen sie auf und bringen dabei, wenn die Membran genügend dick ist, nicht selten eine konzentrische Streifung deutlich zur Anschauung, wie es schon von Will beobachtet wurde. Nach dem genannten Autor soll 10-proz. Kalilauge der Membran eine gelbe Färbung verleihen, welche durch Erwärmung des Präparates noch deutlicher gemacht werden könne. Meine Untersuchungen zeigten jedoch, daß eine solche Färbung wenig konstant und wenig deutlich ist.

c) Gewöhnliche Lösungsmittel. Von den gewöhnlichen Lösungsmitteln wendete ich Aether, Chloroform, Aether und Chloroform in einer Mischung zu gleichen Teilen und Chloral an. Mit keinem von diesen, die ich einwirken ließ, um herauszufinden, ob wachsartige oder harzige Substanzen in der Membran angehäuft und verteilt vorkämen, erhielt ich irgendwelches Resultat. Alle lassen die Membran ein wenig quellen oder heben sie doch deutlich gegen den Inhalt ab, welcher letzterer ziemlich häufig eine leicht gelbliche Färbung annimmt wegen der Lösung der in ihm vorkommenden Fettkörperchen. Ich bemerke noch, daß durch eine derartige Behandlung die Membran aufgeweicht wird, so daß sie Einsenkungen und Hervorragungen bildet.

Auch Kupferoxydammoniak löst die Membran der Blastomyceten nicht auf (was es ja bei den Cellulosemembranen thut), auch nicht, wenn man während langer Zeit vorher 2-proz. Essigsäure einwirken ließ.

Eine derartige negative Reaktion zeigt sie gemeinsam mit den Pectinmembranen (Mangin).

d) Macerationsmittel. Von den Reagentien, welche als Macerationsmittel wirken konnten, löst keine die Membran auf. In der That beobachtet man nach länger anhaltendem Kochen in Wasser nur eine Quellung, bei Anwendung der Schultze'schen Mischung fast immer nur ein Durchsichtigwerden der Membran, welches letztere so weit geht, daß man die Membran, wenn man sie erkennen will, an den Stellen des Präparates beobachten muß, wo zwei oder mehrere Zellen in Berührung miteinander sind, oder auch zur Färbung des von ihnen umschlossenen Inhaltes greifen muß. Es braucht wohl nicht erst hervorgehoben zu werden, daß man sich starker Vergrößerungen und Immersionslinien bedienen muß.

e) Verdauungsflüssigkeiten. Behandelt man die Zellen mit künstlichem Verdauungssafte, so wird mit der Zeit das Protoplasma verdaut, zu gleicher Zeit wird die Membran deutlicher gemacht, auch schon dadurch, daß sie ein wenig quillt.

f) Beizmittel. Unter den Beizmitteln verdient das von Cörner (11) für die Cilien der Bakterien vorgeschlagene den Vorzug. Da indessen eine derartige Behandlung keinen praktischen Wert hatte, habe ich mich nicht eingehender mit ihr beschäftigt.

---

Wie man auch nach Vornahme aller dieser Reaktionen versuchen mag, durch richtige Deutung derselben zu einem Schlusse über die chemische Natur der gewöhnlichen pflanzlichen Membranen zu gelangen, so gelingt es doch nur mit der größten Schwierigkeit, eine Richtschnur zu finden.

Man kann in der That behaupten:

1) daß die Membran der Blastomyceten weder aus Cellulose noch aus Mikrocellulose bestehend angesehen werden darf. Sie nimmt nämlich mit den jodhaltigen Reagentien, auch wenn man ihrer Anwendung eine mannigfache Behandlung vorhergehen läßt, unter diesen eine solche mit Schwefelsäure, konzentrierter (Mangin) oder verdünnter alkoholischer Lösung von Kali, keine violette Farbe an. Ferner weil sie sich in den von Mangin bekannt gegebenen Färbemitteln der Cellulose, unter diesen mit Rocellin und Crocein in saurer Lösung, Congorot in alkalischer Lösung, Congorot nach vorheriger Einwirkung von Salzsäure und des Schweizer'schen Reagens (Strasburger), und ebensowenig mit dem 14-proz. Hämatoxylin von Giltay färbt;

2) daß die Membran der Blastomyceten nicht aus Cellulose besteht, weil wässerige alkalische Lösungen (Kali und Natron) sie nicht auflösen; weil die jodhaltigen Reagentien ihr keine gelbbraune Farbe verleihen, und weil endlich das Corallin sie nicht mit dem charakteristischen brillanten Rot färbt.

3) daß endlich in Bezug auf die Möglichkeit einer Pectinnatur wohl folgende Reaktionen positiv ausfallen, nämlich die Unlöslichkeit in 2-proz. Essigsäure nach vorheriger Behandlung mit dem Schweizer'schen Reagens, und das Ausbleiben einer Cellulosereaktion hinterher, eine beständige Färbbarkeit mit Methylenblau und Safranin; daß aber im Gegensatz dazu nach Behandlung mit verdünnten Säuren und danach mit Alkalien keine Lösung eintritt, während dies bei den Pektinsubstanzen der Fall ist; ferner oxalsaures Ammonium nicht lösend wirkt, auch wenn vorher salzsaurer Alkohol eingewirkt hatte, was jedoch, nach Mangin (12) bei den Membranen stattfindet, welche Pectinsäure in Gestalt von pectinsaurem Kalke enthalten.

Wir müssen uns indessen vergegenwärtigen, daß die Pectinmembranen noch recht wenig erforscht sind, und so viel man wenigstens weiß, sicher nicht nur aus einer einzigen Verbindung bestehen. Denn nur so ist es möglich, daß sie in Bezug auf die mikrochemischen Reaktionen so bedeutende Unterschiede untereinander aufweisen, wie es thatsächlich der Fall ist. Der negative Ausfall von gewissen Re-

aktionen braucht deshalb gar nicht die große Bedeutung zu besitzen, wie es zu Anfang scheinen möchte.

Im übrigen aber, wenn wir die Reaktionen betrachten, welche eine von Mangin nach seinen letzten Untersuchungen als pectinartig gedeutete (früher wurde sie als von plasmatischer oder schleimiger u. s. w. Natur bezeichnet) Substanz, nämlich die auskleidende Membran der Intercellularräume, welche besonders in den Samenschalen der Papilionaceen untersucht wurde, besitzt, so finden wir, daß eine große Analogie zwischen den Reaktionen dieser Substanz und derjenigen der Blastomycetenmembranen besteht. Ich gebe hier eine tabellarische Uebersicht zum Vergleich der von Mattiolo und Buscalioni (13) mit genannter Substanz vorgenommenen Reaktionen und derjenigen, welche ich mit der Membran der Blastomyceten erhielt (siehe nebenstehende Tabelle).

Mit anderen Worten also: Sowohl die von Mattiolo und Buscalioni untersuchte Substanz, als die Membran der Blastomyceten verhalten sich ganz gleich folgenden Reagentien gegenüber: Alkohol, Aether, Salpetersäure, Chlorzinkjod, Schwefelsäure, Raspail'sches, Millow'sches Reagens, Anilinpikrinblau, Schultze'sche Mischung, Chromsäure, Hanstein'sches Violet, Magensaft.

Die Abweichungen reduzieren sich also auf das Verhalten gegen das Russow'sche Reagens, Natron-Corallin und Anilinblau, und es wird wohl Niemand geben, der nicht zugeben würde, daß es sich hier um so geringe Unterschiede handelt, daß man sie unbeachtet lassen kann. Denn es ist in der That klar, was für eine Wichtigkeit die Färbungen mit Natron-Corallin und mit Methylenblau, die noch dazu kaum wahrzunehmen sind, haben können. Einen größeren Wert könnte man schon dem Ausbleiben der Reaktion gegen das Russow'sche Reagens beimessen. Noch wichtiger ist die Thatsache, daß die Membran der Blastomyceten unlöslich in oxalsaurem Ammonium nach vorheriger Behandlung mit salzsaurem Alkohol ist, während dies doch nach Mangin mit der Pectinsubstanz der Fall ist.

Meiner Ansicht nach sind indessen derartige, verschiedene Reaktionen nicht imstande, die nähere Analogie zwischen der Pectinsubstanz und der Membran der Blastomyceten zu zerstören. Höchstens könnten sie zu dem Schlusse führen, daß die Pectinsubstanz, welche in jenen Membranen vorkommt, nicht vollkommen identisch mit jener der Intercellularsubstanz u. s. w. ist, dabei aber immer doch ein Derivat der Pectinsäure bleibt.

---

Wenn wir es also als ausgemacht ansehen, daß die chemische Zusammensetzung der Membran der Blastomyceten auf Pectose hindeutet, so erhebt sich nun die Frage, ob die chemische Zusammensetzung in allen ihren Schichten eine gleiche ist oder nicht.

Die Untersuchungen in Bezug auf diese Frage sind noch weit davon entfernt, zu einem sicheren Resultate gelangen zu lassen. Jedenfalls aber scheint es mir, daß ein Verdacht in dieser Beziehung begründet ist, und zwar aus folgenden beiden Gründen. Nach längerer Einwirkung von Alkohol und Aether erhielt ich mit Chlorzinkjod eine

Mikrochemische Reaktionen der Intercellularsubstanz der Samenschalen der Papilionaceen  
und der Membran der Blastomyceten.

No.	Angewendete Reagentien	Reaktion der Intercellularsubstanz der Samen etc. nach Mattiolo und Buscalloni	Reaktion der Blastomycetenmembran nach den Untersuchungen des Verf.'s
1	Absoluter Alkohol	Wird nicht angegriffen, aber durchsichtig	Dasselbe <sup>1)</sup>
2	Aether	Wird nicht angegriffen	Dasselbe
3	Salpetersäure	Wird nicht angegriffen, aber durchsichtig	Dasselbe
4	Kalilauge (konz. Lösung)	Wird in der Kälte hyalin und verschwindet beim Erwärmen	Wird durchsichtig und verschwindet in der Kälte nach einigen Monaten
5	Chlorsinkjod	Bläht sich auf, wird nicht violett, bleibt mit leicht gelber Färbung oder ungefärbt erhalten	Dasselbe
6	Jodtinktur	Färbt sich leicht gelb, und diese Farbe bleibt auch nach der Ueberführung in Wasser erhalten	Färbt sich manchmal leicht gelb
7	Schwefelsäure	Bläht sich auf und verschwindet nach langer Einwirkung des Reagens	Bläht sich auf, wird dann durchsichtig und verschwindet
8	Russow'sches Reagens	Färbt sich gelb	Bleibt ungefärbt
9	Baspail'sches Reagens	Zeigt nicht die charakteristische Protoplasmaeaktion	Dasselbe
10	Millon'sches Reagens	Färbt sich nicht, wird durchsichtiger	Dasselbe
11	Natron-Corallin	Färbt sich nicht	Färbt sich ein ganz klein wenig
12	Anilinblau	Färbt sich nicht	Färbt sich ein ganz klein wenig
13	Anilin-Pikrinblau	Färbt sich	Dasselbe
14	Schultze'sche Mischung	Löst sich weder in der Kälte noch in der Wärme, hellt sich auf und färbt sich nachher nicht mit Chlorsinkjod	Dasselbe
15	Chromsäure (konz.)	Bläht sich auf und löst sich	Dasselbe
16	Anilinviolett nach Haustein	Färbt sich rot	Dasselbe
17	Magensaft	Wird durchsichtiger und färbt sich nachher mit dem Russow'schen Reagens gelb.	Färbt sich rötlich-violett Wird durchsichtiger, färbt sich aber nachher nicht mit dem Russow'schen Reagens

1) Dasselbe, ist im horizontalen Sinne zu verstehen.

Gelbfärbung der Membran, jedoch war diese an den inneren Schichten intensiver als an den äußeren, und ferner färbte sich mit Jodgrün und Strasburger'schem Fuchsin lediglich die äußere Schicht. Die erstere Färbung könnte den Gedanken aufkommen lassen, daß an der chemischen Zusammensetzung, wenigstens der inneren Schicht, irgendwelcher Eiweißkörper sich beteilige; ließ ich jedoch auf ebenso behandelte Blastomyceten das Millon'sche Reagens einwirken, so konnte ich niemals an der Membran jene bekannte ziegelrote Färbung der Eiweißkörper wahrnehmen. Die zweite Färbung bedeutet allerdings vom rein mikrochemischen Standpunkte aus gar nichts, dessen ungeachtet etweckt sie aber in uns doch den Glauben, daß die äußere und innere Schicht nicht die gleichen Eigenschaften besitzen, was für die chemische Zusammensetzung von Bedeutung sein kann.

In Bezug hierauf dürfte die Erwähnung der Thatsache am Platze sein, welche Nägeli und Löw (14) bekannt gemacht haben, nämlich daß in der Membran von *Saccharomyces cerevisiae* ein Mycomucin vorkommt, das man durch wiederholtes Kochen abscheiden kann. Mir wollte es indessen nicht gelingen, ein ähnliches Resultat hier zu erhalten.

Im übrigen aber auch zugegeben, daß man eine solche Substanz abscheiden kann, wie will man den Schluß rechtfertigen, daß diese wirklich von der Membran und nicht vom Zelleninhalte abgeschieden wird? Weiß man doch nach den Untersuchungen von Hansen (15), daß in diesem Inhalte gerade, wenigstens zur Zeit, wenn die Blastomyceten Sporen treiben, sich eine schleimige Substanz vorfindet, und daß unter bestimmten Umständen die Blastomyceten selbst ein schleimiges Netz abscheiden können!

Auf jeden Fall steht die Thatsache, daß die äußere Schicht dünner, aber zugleich auch resistenter als die innere Schicht ist, fest, da man bei Behandlung der Blastomyceten mit zur Hälfte verdünnter Chromsäure die Angabe von Will bestätigt findet, daß die äußere Schicht zuletzt verschwindet. Es scheint mir indessen, daß sie zu gleicher Zeit weniger dehnbar als die innere Schicht ist. Es ist zwar wahr, daß sie sich anfangs von der letzteren abhebt, sich erweitert und ausdehnt; ist aber diese Dehnung an einem bestimmten Punkte angelangt, so platzt sie, was bei der inneren Schicht niemals vorkommt.

Auf die Ansicht von Bizzozero (3) über die verschiedene Zusammensetzung der beiden Membranschichten, welche auf das verschiedene Verhalten gegen Methylenblau nach vorheriger Behandlung mit halbkonzentrierter Essigsäure begründet ist, will ich nicht weiter eingehen, da ihr eine Beobachtung zu Grunde liegt, welche ich in keiner Weise bestätigen kann.

Endlich, die letzte Frage, mit der wir uns zu beschäftigen haben, ist die nach der chemischen Zusammensetzung der Membran von Blastomyceten, welche ein parasitäres Leben geführt haben. Die Untersuchungen, welche ich an zwei, aus zwei Neoplasien isolierten Blastomyceten vornahm, ließen mich nicht irgend einen Unterschied

finden, höchstens einen leichteren oder wenigstens weniger langsamen Eintritt der Färbung der Membran.

Hiermit soll jedoch nicht gesagt sein, daß innerhalb der Gewebe die Membran nicht Modifikationen derart erleiden könnte, daß sie sich gegen Reagentien verschieden verhält. Im Gegenteil so etwas muß zweifelsohne eintreten, da es ja bekannt ist, daß die Membran eine enorme Dicke gewinnen, und sich sogar auf Kosten der äußeren Schicht schichten kann. Es wäre übrigens interessant, weitere Untersuchungen hierüber anzustellen und zu sehen, ob es sich in vielen Fällen um eine wahre und wirkliche Verschleimung der Membran oder nur um eine andere Umbildung von ihr handelt.

---

Aus den hier oben mitgeteilten Untersuchungen ergibt sich Folgendes:

1) Die Membran der Blastomyceten wird nicht von einer einschichtigen Kapsel, sondern von zwei oder mehr Schichten gebildet, welche nicht nur bei den alten, sondern auch bei den jungen Fermentzellen vorkommen.

2) Die chemische Natur der Membran der Blastomyceten deutet auf Pectose, oder besser gesagt auf eine analoge Pectinsubstanz, welche aber nicht mit der Auskleidungssubstanz der Intercellularräume bei den Papilionaceen identisch ist.

(Fortsetzung folgt.)

---

*Nachdruck verboten.*

## Una malattia bacterica dell' *Apium graveolens* L.

Del

**Dr. Ugo Brisi,**

Libero-Docente di Botanica nella R. Università di Roma.

Nella primavera dello scorso anno da diversi luoghi dell' Alta Italia specialmente della bassa valle del Po (Ferrara—Rovigo) vennero spediti alla R. Stazione di Patologia Vegetale molti campioni di piante del comune Sedano (*Apium graveolens*<sup>1)</sup>, affette da una singolare malattia.

La base dei larghi picciuoli delle foglie, e specialmente quella porzione la quale, essendo ricoperta per un certo tempo di terra rimane scolorata, ed anche la porzione verde fino ad una certa altezza, presentavano delle macchioline di color giallo il quale ben presto assumeva una tinta rossastro rugginosa. In corrispondenza delle macchioline i tessuti apparivano avvallati e sprofondati, e l' ulceretta così formatasi ingrandendo rapidamente e scavando per così dire i sottoposti tessuti, finiva col formare delle larghe chiazze rossastre, orlate da un aureola livida jalina, le quali chiazze si estendevano per tutta la superficie, specialmente esterna, del picciuolo stesso.

---

1) Lavoro eseguito nella R. Stazione di Patologia Vegetale di Roma. Dic. 1896.



I picciuoli così colpiti ed anche le stesse foglie finivano ben presto col cadere in putrefazione assumendo, prima di trasformarsi in una massa putrida, un'aspetto paragonabile a quello che prendono i tessuti molto ricchi di acqua (piante grasse), quando vengano fortemente contusi o scottati coll'acqua bollente.

Lasciando i picciuoli colle ulcerette in via di sviluppo in camera umida per 18—24 ore, la superficie delle ulcerette apparisce velata da uno straterello di liquido torbido giallastro e vischioso, il quale velo dopo 36—48 ore prende l'aspetto di una grossa goccia mucilaginosa la quale è costituita da zooglee di bacilli tenuti insieme da un muco giallastro.

Esaminando al microscopio una ulceretta non molto avanzata, si riconosce, dopo attento esame, la presenza di innumerevoli bacilli grossi ( $2-2\frac{1}{2}$   $\mu$ ), fortemente rifrangenti dritti, leggermente attenuati all'estremità, mobilissimi, miche occupano totalmente gli elementi dei tessuti invasi, persino talvolta le cellule del collenchima e gli elementi dei cordoni vascolari.

Le cellule ripiene di milioni di questi bacilli, naturalmente, vengono uccise, i contenuti scompaiono cedendo il posto alle zooglee, di bacilli, la membrana dapprima ingiallisce poi imbrunisce; gli elementi stessi, specialmente dei parenchimi, perdono il loro turgore dando origine alla depressione ulcerativa caratteristica; finalmente la lamella mediana si discioglie e gli elementi si separano trasformando i tessuti colpiti in una massa putrescente.

Nel principio della infezione quando cioè le pustole sono piccole non ancora molto affondate nei tessuti, ma che interessino appena l'epidermide, è facile notare come esse abbiano origine e sede sempre nei tessuti molli interposti fra i grossi cordoni collenchimatici, rilevati che costituiscono le costole ben visibili sulla porzione esteriore dei grossi picciuoli delle foglie.

Nei punti infetti l'epidermide scompare ben presto e intorno ad essi si solleva e si distacca dal sottostante parenchima, e finisce col cadere lasciando spesso i cordoncini collenchimatosi ipodermici allo scoperto per un certo tratto. L'ulceretta si approfondisce così corrodendo per così dire i tessuti intorno ai cordoncini ipodermici, e di lì si distribuiscono nel parenchima corticale dei piccoli focolai d'infezione i quali si raggruppano per solito presso i canali escretori, frequenti come è noto al disotto dei cordoni ipodermici e nella massa stessa del parenchima; i canali stessi sono spesso infarciti di mucilagine contenente milioni di batteri. Poco dopo vengono invasi anche i cordoncini ipodermici nei quali alcuni elementi cominciano ad ingiallire riempiendosi di mucilagine e di bacilli e ben presto l'intero cordone di collenchima è totalmente invaso e finisce col putrefare. Più tardi i bacilli invadono gli stessi cordoni vascolari attraverso i quali l'infezione si diffonde rapidamente lungo il picciuolo.

La porzione floematica del fascio resta lungo tempo immune, e tale si rinviene anche in qualche caso in cui vengono distrutti, quasi interamente, oltre al parenchima corticale in corrispondenza del fascio, anche la zona cambiale cogli elementi imbruniti e pieni di batteri, il midollo seminato di focolai d'infezione, e infine persino le trachee.

Infatti, sezionando un cordone vascolare un po' al disotto di una ulceretta e trattando opportunamente la sezione nel modo che ora, dirò, si riesce a scorgere nel fascio le localizzazioni dei grossi batteri i quali occupano totalmente il parenchima fondamentale, il lume delle trachee, il midollo, la zona cambiale, rispettando il cordone di collenchima e i tubi cribrosi.

Questa localizzazione beninteso si presenta all' inizio della diffusione, e specialmente nei tessuti limitrofi alle ulcere; quando poi queste ultime sono molto depresse ed estese, come avviene quando il picciuolo, tenuto più giorni in camera umida sta per putrefarsi interamente, allora non è più il caso di parlare di localizzazioni giacchè i bacilli si riscontrano anche nelle porzioni floematiche dei fasci che vengono anzi distrutti insieme ai tessuti circostanti formando delle grandi cavità lisigeniche.

Nelle porzioni di picciuolo fortemente infette, ma non ancora totalmente decomposte, sono assai interessanti ed istruttive le preparazioni che permettono di mostrare i rapporti tra il bacillo e i tessuti dell' ospite, preparazioni non molto facili ad eseguirsi perchè i tessuti alterati sono estremamente molli, sia per la quantità d' acqua che contengono, sia perchè in via di putrefazione. Le porzioni di tessuti infetti non si possono indurire, o fissare coll' alcool assoluto perchè esso per la rapida sottrazione dell' acqua contrae e deforma gli elementi, compresi i batteri in guisa che essi divengono irricognoscibili. L' indurimento dei tessuti da sezionare si ottiene invece lasciando i frammenti per 48 ore in un liquido costituito da 100 parti di acqua distillata alle quali si aggiunge una parte d' acido acetico glaciale e una parte di acido cornico; il frammento così trattato dopo circa 48 ore si può mettere nell' alcool a 70° e quindi nell' alcool assoluto per completare l' indurimento.

I pezzi induriti si lasciano quindi imbevare di una soluzione di paraffina nel cloroformio, per circa 24 ore in recipiente chiuso; si versa quindi la soluzione di paraffina in un piccolo recipiente o in una scatolina di carta ponendovi i frammenti di tessuto e lasciando essicare all' aria. I tessuti così inclusi si sezionano ottimamente a mano o con un piccolo microtomo.

Si ottengono poi eccellenti colorazioni doppie per mettere in evidenza bacilli nelle sezioni dei tessuti col metodo seguente: liberati i tagli dalla paraffina tenendoli pochi minuti nel cloroformio agitandoli continuamente, si lavano a lungo con acqua distillata e s' immergono in una soluzione acquosa all' 1°/100 di verde di metile e si lasciano ivi per circa tre o quattro ore dopo il qual tempo si passano in acqua distillata leggermente acidulata con acido idroclorico; con tale trattamento i bacilli colorati in verde non si scolorano nell' acqua acidulata mentre il tessuto fondamentale, le membrane e i contenuti cellulari si decolorano totalmente; si trasporta allora la preparazione decolorata al punto giusto in una soluzione acquosa di picro-carminio, nella quale si lasciano le preparazioni per circa un' ora, poi si lavano si disidratano si impregnano coll' olio di garofano e si montano in balsamo. In tal modo nelle preparazioni ben riuscite i bacilli colorati in verde

spiccano sul fondo rosso dei contenuti protoplasmatici delle cellule e roseo delle membrane.

Una buona colorazione pure caratteristica si ottiene col violetto di genziana all'acido acetico (acqua p. 100, acido acetico p. 10, soluzione alcoolica satura di violetto di genziana p. 20). Trattate le sezioni colla soluzione colorante per circa un'ora, si passano in alcool forte al quale si aggiungono alcune gocce di ipoclorito di soda. In tal modo i tessuti si decolorano totalmente ed i soli batteri restano colorati in violetto; a questo punto poi si può immergere per alcune ore la preparazione in una soluzione di eosina la quale da una colorazione rosea al fondo, colorazione che permane anche dopo l'impregnazione in olio di garofano e la montatura in balsamo.

\* \* \*

Nelle foglie le porzioni infette mostrano una tinta livida come se la lamina fosse stata in quel punto scottata con acqua bollente; in principio dell'infezione in corrispondenza delle macchioline livide gli elementi del mesofillo si appiattiscono alquanto mentre le pareti cominciano ad imbrunire; si possono allora constatare nelle cavità delle cellule e negli spazi intercellulari numerosi bacilli i quali formano delle piccole zooglee avvolte in muco giallastro, producendo la decomposizione della massa plasmatica e la disorganizzazione dei cloroplasti i quali diventano bruni e sono addirittura distrutti rapidamente; distrutti i cloroplasti la parete persiste ma la cellula verde a questo punto è diventata bruna e si mostra ripiena in gran parte e qualche volta in totalità di mucillaggine ricca di bacilli.

La preparazione delle sezioni delle foglie infette è assai difficile per la estrema mollezza dei tessuti i quali non resistono alla fissazione necessaria per la preparazione dei bacilli, e non si possono neppure seguire i metodi più sopra descritti per i picciuoli.

Si possono però ottenere delle preparazioni mediocri, ma sufficienti allo scopo, sezionando all'asciutto molti frammenti di foglie in principio d'infezione, avendo cura di scegliere per la sezione i punti immediatamente vicini all'aureola livida delle macchioline che segnano il principio della infezione; le sezioni, che sarà più facile ottenere sovrapponendo moltiframmenti di foglia, si pongono sopra un vetrino copri-oggetti e si lasciano all'aria finchè siano un po' asciugate ma non già totalmente disseccate; si pone quindi il vetrino colle sezioni aderenti volte all'ingiù sopra una boccetta aperta contenente una soluzione (10 %) di acido osmico, i vapori del quale in pochi minuti fanno ottimamente i batteri. Le preparazioni così fissate si possono colorire nel modo descritto più sopra ed ottenerne anche delle colorazioni doppie.

L'infezione della lamina fogliare non è primaria ma avviene secondariamente attraverso il tessuto conduttore dei picciuoli nei quali sembra abbia esclusiva sede ed origine l'infezione; infatti la lamina non viene mai direttamente infetta ma viene colpita quando il picciolo è esso stesso fortemente infetto. La ricerca microscopica dà ragione di questo fatto perchè i bacilli percorrono le trachee dei fasci conduttori più rapidamente che non gli altri tessuti e penetrano nella foglia per

mezzo delle trachee delle nervature attraverso le quali passano nel mesofillo, fatto che è assai facile constatare giacché la infezione sulle foglie, anzichè cominciare dall'epidermide principia invece sempre intorno alla nervatura dalla quale si irradia e solo tardi quando già il mesofillo è molto infetto ed in via di decomposizione vengono attaccate le epidermidi.

Il bacillo il quale non ha finora un nome e che provvisoriamente chiamerò *Bacterium Apii* si coltiva facilmente in diversi mezzi nutritivi. Sulla gelatina di brodo di vitello peptonizzata col, 10 % di gelatina, cresce bene ad una temperatura di 20—22 °; le colonie, che appaiono sulle piastre dopo 18—24 ore, sono bellissime e caratteristiche giacché dopo 5 o 6 giorni diventano grosse, rilevate a forma di una mezza sfera, jaline, trasparenti, perfettamente simili in apparenza a grosse e brillanti gocce di glicerina, che crescono in superficie senza affondare nel substrato, e per conseguenza senza fondere la gelatina. Nelle culture a striscia a superficie inclinata nei tubi, le colonie si fondono in una sola striscia a contorno ondulato e di aspetto simile a quello delle colonie isolate; nelle culture per infissione in tubo le colonie si sviluppano soltanto alla superficie ed abbastanza rapidamente, mai nell'interno del canale d'infissione il che dimostra che il bacillo è perfettamente aerobio.

Nelle fette di patate e sulle patate in tubo le colonie si sviluppano lentamente, restano piccole ed acquistano presto una tinta gialliccia; nel brodo di carne peptonizzato, con agar-agar le colonie crescono assai stentatamente, restano piccole, puntiformi e non raggiungono mai le dimensioni (5—7 mm. di diametro) che raggiungono sulla gelatina. Nel mosto d'uva al 10 % gelatinizzato, non si sviluppano mai.

I bacilli ottenuti dalle culture pure si colorano più difficilmente cogli stessi metodi impiegati per i tessuti, perchè sono avvolti in abbondantissima mucillagine che impedisce la colorazione. Per ottenere delle buone preparazioni si stempera una porzione della colonia in acqua distillata tiepida. Si fissano i bacilli alla fiamma e il vetrino copri-oggetto si lascia nuotare per qualche tempo in una soluzione di bleu di anilina, e dopo una rapida lavatura in alcool assoluto si lascia asciugare all'aria. Quando è ben disseccato s'immerge in una soluzione di corallina sodica (40 %) la quale rispetta la colorazione dei bacilli che rende anzi più intensa e colora indere in roseo il fondo mucillaginoso.

Le colonie, lasciate a sè medesime, dopo un certo tempo si intorbidano si fanno gialliccie ma senza fondere mai in nessun caso la gelatina.

La malattia batteriologica ora descritta, la quale ha qualche somiglianza con quella citata da Russell (*Bacteria in their relation of vegetable tissue*, in *Hosp. Rep. of Baltimore* III, 1893) e descritta da Halsted, ha menata una vera strage nelle coltivazioni dei sedani, e tale malattia, se non è del tutto nuova, certo non era stata mai finora osservata nè descritta in Italia.

*Nachdruck verboten.*

## Marciume radicale delle piantine di Tabacco causato dalla *Thielavia basicola*, Zopf.

Nota del Dr. V. Peglion,

Assistente nella R. Stazione di Patologia Vegetale di Roma.

Vari Autori hanno studiato le cause dei deperimenti che avvengono spesso nei semenzai di Tabacco e più oltre espongo in succinto i risultati delle loro ricerche. Scopo di questa breve nota si è di descrivere una speciale malattia che ha inferito nei semenzai, posti sotto la direzione della agenzia dei Tabacchi di Sansepolcro, e che ha colpito con maggiore intensità delle altre varietà coltivate, il Kentucky-Borley, ed in minor grado anche il Seed-Leaf.

Questa malattia consiste in una putrefazione delle radici secondarie e della estremità del fittone, cui segue un rapido ingiallimento della parte aerea della pianta. La parte ancora sana del fittone stesso emette numerose radici avventizie che si sviluppano assai rapidamente, ma che ben di rado possono sostituirsi al sistema radicale normale delle piantine, le quali in breve tempo disseccano e muoiono.

Un'esame accurato delle radici putrefatte permette di osservare delle chiazze nere, fuliginose che ricoprono zone estese delle radici medesime; l'esame microscopico vi rivela gli apparati fruttiferi di un fungillo che presenta tutti i caratteri della *Thielavia basicola*, Zopf.

Questo fungillo della famiglia delle Perisporiee è stato accuratamente illustrato dallo Zopf, che lo ha riscontrato parassita del sistema radicale di varie piante coltivate, *Lupinus luteus*, *L. angustifolius*, *L. albus*, *L. thermis*, *Trigonella caerulea*, *Onobrychis crista galli*, *Pisum sativum*, *Senecio elegans*.

Finora il tabacco non figurava fra le piante ospiti di questo fungo che vive eziandio sulle radici di *Cyclamen* secondo il Sorauer e di viola mammola secondo Thaxter e che, analogamente ad altri funghi radicolici mostra un'adattabilità assai grande riguardo alle piante ospiti, le quali, come risulta da quest'elenco appartengono a famiglie molto lontane fra loro.

La mortalità delle piantine di tabacco nei semenzai è stato oggetto di accurati studi da parte di J. Behrens (1) ed O. Comes (2). La malattia descritta dal primo autore si manifesta coll'avvizzimento dei cotiledoni e delle prime foglie che diventano in breve tempo molli, glutinose quasi mucillaginose; queste parti alterate anneriscono rapidamente in seguito allo sviluppo di una fitta rete miceliare sulla quale spuntano ben presto le caratteristiche fruttificazioni dell'*Alternaria tenuis*, le quali ricoprono di uno strato vellutato le piantine morte. Questo fungo di solito, si comporta da vero saprofita ed è assai diffuso; esso diventa in questo caso parassita perchè trova le piantine

di tabacco già ostacolate nello sviluppo da sfavorevoli condizioni esterne e soprattutto dalla eccessiva umidità e dall'imperfetta aerazione dell'ambiente.

Comes ha descritto una estesa mortalità nelle piantine avvenuta nei semenzai dell'orto Botanico di Portici, «le piantine deperivano in seguito al disfacimento del fittone il quale incominciava a marcire dal basso in alto . . . e nelle parti marcite le cellule presentavano colonie numerosissime di microbi fra cui predominavano quelli del *Bacterium amylobacter*, talvolta ma non sempre accompagnate da un micelio fungino riferibile all'*Alternaria tenuis* e da altre ife affatto sterili ed analoghe a quelle della *Fibrillaria*; talvolta si è ravvisata la presenza anche del *Cladosporium herbarum* e dell'*Anguillula radiculicola*».

Tutti i microorganismi succitati conducono di solito una vita strettamente saprofita e possono diventare parassiti quando vengono a contatto di piantine già deperite per opera di condizioni esterne sfavorevoli allo sviluppo. Ed anche in questo caso, nel ristagno dell'acqua nel suolo e quindi nella insufficiente aerazione dell'ambiente si deve ricercare la causa prima della alterazione, e la presenza dei detti microorganismi rappresenta un epifenomeno.

È pure ovvio attribuire una notevole importanza a queste condizioni sfavorevoli di sviluppo nella ricerca delle cause della malattia che si è sviluppata nei semenzai di S. Sepolcro, dove può darsi, che la invasione delle piantine per opera della *Thielavia basicola* sia stata favorita dall'essere la varietà di tabacco piuttosto delicata e dall'imperfetta preparazione dei semenzai come verrà detto, dopo esposti i caratteri del fungo.

L'esame microscopico delle radicle annerite mostra le medesime ricoperte da una fitta trama miceliale di aspetto fuliginoso; questo micelio invade la regione epidermica ed i tessuti corticali distruggendo i contenuti cellulari e le cellule stesse: esso è costituito da filamenti ad articoli brevi, assai ramificati, di colore olivaceo, che attraversano le pareti degli elementi e si aggomitolano nella cavità cellulare soprattutto negli strati più esterni del parenchima corticale. Da questo micelio si dipartono degli ifi che si diffondono nel terreno circostante sotto forma di cordoni costituiti da pochi filamenti lassamente aggregati, in guisa da ricordare le rizomorfe caratteristiche di altri funghi sotterranei. Alla superficie esterna della radice compaiono dapprima due forme diverse di fruttificazioni conidiali: la prima è costituita da conidi ialini che si generano all'interno di filamenti eretti, settati, nei quali il protoplasma che riempie l'ultimo articolo si frammenta e dà origine alle spore, che escono dal filamento attraverso ad una apertura situata all'apice del medesimo. Queste ife endoconidiofore, che hanno ricevuto dallo Zopf il nome assai ben appropriato di „Pistolenförmige Conidienbildungen“ ricordano le fruttificazioni degli *Endoconidium*. I conidi così prodotti hanno in media un diametro longitudinale di  $6\ \mu$  e trasversale di  $4\ \mu$ . I filamenti conidiofori hanno una lunghezza assai variabile in media  $60-80\ \mu$  con un diametro trasversale di  $5-5\frac{1}{2}\ \mu$ , essi possono produrre 4-5 endoconidii. La seconda forma conidiale si manifesta quando è

già avvenuta la differenziazione degli endoconidi: gli stessi filamenti endoconidiofori, oppure delle brevi ramificazioni del micelio producono dei gruppetti di catenelle di spore brune molto simili a prima vista alle fruttificazioni ibernanti dei *Phragmidium* o di alcuni *Helminthosporium*; ed invero il Sorokine (4) nel 1876 descrisse questa forma come specie a sè sotto il nome di *Helminthosporium fragile*; ogni ramificazione può portare fino a 5 catenelle composte alla loro volta da 4—5 spore ognuna, che a maturità si separano le une dalle altre ed allora misurano da  $14-16 \mu \times 10-12 \mu$ . Sono le spore che Zopf considera come organi ibernanti o clamidospore.

In mezzo ai filamenti conidiofori si formano i periteci: sono corpicciuoli sferoidali, privi di qualsiasi apertura ostiolare, che misurano un diametro medio di  $80-100 \mu$  a parete piuttosto sottile, dapprima ialina poscia brunastra. Essi contengono un numero variabile di aschi ovoidi, che scompaiono rapidamente ponendo in libertà all'interno del peritecio 8 spore di color bruno-cioccolatte, limoniformi, provvedute di una grossa goccia oleosa centrale e misuranti  $8-10 \times 4-5 \mu$ .

Non sempre i periteci sono superficiali, talvolta essi si formano nello spessore dei tessuti corticali differenziandosi in seno ad ammassi miceliali.

Non sono riuscito ad osservare la germinazione delle clamidospore e delle ascospore. Gli endoconidi germinano invece assai facilmente nell'acqua e si sviluppano assai rapidamente nelle comuni soluzioni nutritive. Io ne ho fatto delle culture in gelatina di mosto acido, sul mosto all'agar-agar e sulle fette di patata sterilizzate. Nella gelatina al mosto i conidi perdono la forma cilindrica ed ingrossano diventando ovali, essi emettono da ambo i poli dei tubi germinali che si allungano molto rapidamente producendo un ammasso miceliare di aspetto mucoso, immerso nel substrato nutritivo che viene rapidamente fluidificato; da questo micelio si dipartono dei filamenti verticali, che sporgono alla superficie del substrato e sui quali si differenziano gli ifi endoconidiofori che presentano la caratteristica forma a pistola. All'epoca della emissione dei primi conidii la coltura è perfettamente bianca, a poca a poco essa assume un'aspetto cenerino ed allora s'inizia la formazione delle catenelle di clamidospore, che maturando sollecitamente, fanno prendere una colorazione brunastra all'intera coltura. Fino ad oggi non ho potuto seguire la formazione dei periteci.

Raccogliendo con cura la terra a contatto immediato colle radici putrefatte ponendola in un cristallizzatoio dopo averla inumidita con acqua distillata, si osserva dopo 24 ore di soggiorno in termostato, un tenue velo miceliale che a guisa di ragnatela avvolge e riunisce i grumi terrosi. Su di esso si differenziano ben presto le varie forme di fruttificazione della *Thielavia basicola*; lo sviluppo del micelio è assai vigoroso e numerosi filamenti si dipartono dai grumi di terra diffondendosi lungo le pareti del cristallizzatoio alle quali aderiscono fortemente. Siffatto adattamento del fungo alla vita

saprofittaria trova riscontro nel modo di vita di altri funghi parassiti radicicoli, e fra questi basti citare la *Dematophora necatrix* Hart.

Dato questo facile adattamento, si comprende che questo fungo possa diffondersi nei semenzai: nella confezione di questi si usano largamente terriccio di castagno e letame di stalla, stratificati in guisa da costituire un ambiente caldo e ricco in humus, qual'è necessario per ottenere un sollecito sviluppo delle piantine che si coltivano.

Ed a questo punto giova tener presenti le osservazioni fatte da Sorauer (5) a proposito dell'imbrunimento delle radici di *Cyclamen*: egli ha constatato che la *Thielavia basicola* è assai diffusa nei terricci, e nelle terre soverchiamente ricche in humus ed umide, nei quali le piante che vi si coltivano, acquistano una notevole predisposizione alle malattie parassitarie. Il fungo danneggia soltanto le piante languenti per l'influenza di altre cause quali sarebbero per l'appunto un eccesso di sostanza organica o le irrigazioni troppo di sovente ripetute. Modificando queste cure culturali ed eseguendo le coltivazioni in terreni meno ricchi, Sorauer ha prevenuto lo sviluppo del male. Ora nella preparazione del terreno nei semenzai, onde accelerare lo sviluppo delle piantine, si esagera facilmente nella quantità di letame e nell'uso delle irrigazioni: spesso lo strato di terriccio che ricopre il letame è assai tenue in modo che le tenere radici delle piantine giungendo a contatto del letame in via di fermentazione molto attiva sono scottate. Tale stato di cose indebolendo le piantine le predispone all'invasione dei parassiti che trovano in siffatto ambiente delle condizioni assai favorevoli ed acquistano una virulenza maggiore dell'usuale.

È opportuno perciò di porre in chiaro mediante opportune esperienze quali condizioni siano richieste per lo sviluppo parassitario della *Thielavia basicola* sulle piantine di tabacco. Non è improbabile che alla mortalità piuttosto estesa che si è verificata nei semenzai di Sansepolcro, abbiano contribuito le condizioni culturali delle quali si è fatto un breve cenno. Con una razionale modificazione del sistema di preparazione dei semenzai attualmente in uso si potrebbe in tal caso porre un argine al diffondersi della malattia. Sarebbe necessario inoltre di sperimentare i vari mezzi di disinfezione del suolo, già in uso contro altri parassiti consimili, e di studiare contemporaneamente il comportamento delle differenti varietà di tabacco verso il parassita onde stabilire se vi sia un differente grado di resistenza. Gli agricoltori di Sansepolcro hanno osservato che le piantine di Seed-leaf sono molto meno colpite di quelle di Kentucky-Borley; ora è bene vedere se le condizioni culturali in cui si trovavano le due varietà erano uguali o se presentavano delle differenze tali da spiegare la differente resistenza.

È da augurare che vengano istituite le ricerche necessarie per risolvere i vari quesiti che riguardano questa malattia, la quale, se trascurata, può arrecare danni assai sensibili ad una delle colture industriali che è bene si diffonda quanto più è possibile nelle varie regioni d'Italia.

24. Luglio 1897.



## Bibliografia.

- 1) Zopf, W., Ueber die Wurzelbrüune der Lupinen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. I. 1892. p. 72.)
- 2) Behrens, J., Ueber der Schwamm der Tabaksetzlinge. (Ibid. 1892. p. 327.)
- 3) Comes, Mortalità delle piantine di tabacco nei semenzai. (Atti R. Istituto d'incoraggiamento di Napoli. Serie IV. Vol. IV. 1893.)
- 4) Sorokine, Hedwigia 1876.
- 5) Sorauer, P., Ueber die Wurzelbrüune der Cyclamen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. p. 18.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über den Wurzelschimmel der Reben.

Von

Dr. J. Behrens.

Unter der großen Zahl von Arbeiten, die sich mit der Wurzelfäule der Reben beschäftigen, bildet die bekannte Monographie Robert Hartig's<sup>1)</sup> einen Markstein, der eine einheitliche Auffassung der Krankheit ermöglichte und noch heute den Standpunkt unseres Wissens über dieselbe enthält. Danach ist die Wurzelfäule eine Pilzkrankheit, hervorgerufen durch einen sehr formenreichen Schimmelpilz, die *Dematophora necatrix* R. Hrtg, welche sowohl durch die unverletzte Oberfläche jüngerer und älterer Wurzeln, als auch — und zwar ganz besonders — durch Wunden ins Gewebe eindringt, die lebenden Zellen schon auf einige Entfernung hin tötet und auch auf und in den toten Wurzeln und unterirdischen Stämmen weiterwuchert, Cellulosewände lösend und den Holzkörper zersetzend. Die Vielgestaltigkeit betrifft nur die Mycelformen des Pilzes, bei denen als gemeinsames Kennzeichen das häufige Auftreten einer birnförmigen Anschwellung an der Spitze der einzelnen Hyphenglieder dicht unter der Scheidewand zur nächst höheren Fadenzelle hervorgehoben wird. Dagegen konnte Hartig von Fruchtformen nur eigenartige Konidienträger nachweisen, deren reich verästelte Enden seitlich auf kleinen, warzenartigen Vorsprüngen eiförmige Konidien abschnüren. An Mycelformen, die übrigens nicht alle an der Rebe beobachtet wurden, unterscheidet Hartig folgende:

A. Außerhalb der Wirtspflanze:

- 1) einfach fädiges Mycel;
- 2) zarte Häute und Stränge (Rhizoctonien);
- 3) zweierlei Rhizomorphen, einmal kurze Rhizomorphenäste, deren Elemente in je eine Keulenzelle endigen, und ferner strauchig verästelte, solide, walzenförmige Rhizomorphen;
- 4) Sklerotien auf der Rinde der Wirtspflanze, besonders auch der Rebe.

1) R. Hartig, *Rhizomorpha* (*Dematophora, necatrix* n. sp. Der Wurzelpilz des Weinstocks etc. (Untersuchungen aus dem forstbotanischen Institut zu München. 1883. III. p. 95—135.) — Ein mehr allgemein verständlicher, auch für Laienkreise berechneter Auszug erschien unter dem Titel: „Der Wurzelpilz des Weinstockes, *Dematophora necatrix* R. Hartig. Berlin 1883.“

B. Im Innern des Wirts tritt der Pilz auf:

5) als fädiges Mycel, das in und zwischen den Zellen vegetiert;

6) in Form von zweierlei Rhizomorphen, die aber beide von den sub A 2 genannten verschieden sind, einmal eigenartige Rhizomorphen mit einer von zarten Hyphen durchzogenen Markhöhle, im sklerenchymfreien Rindenparenchym der Rebe, und ferner bandartige, solide Rhizomorphen, in der sklerenchymreichen Rinde von Ahorn, Linde, Eiche zwischen den Hartbastlagen verlaufend;

7) endlich in Form gefächerter Sklerotien, die entstehen durch die Erfüllung toter Rindenzellen, deren Wand aufgezehrt wird, mit Pseudoparenchym seitens der ursprünglich intercellular verlaufenden Hyphen. Anscheinend wurden diese Sklerotien nur in der Rinde der Bohne beobachtet.

Noch erweitert wurde die Zahl der Formen von *Dematophora* durch die Untersuchungen *Viala's*<sup>1)</sup>. Dieser unterscheidet von *Mycélium blanc floconneux extérieur*“, und ein aus diesem mit zunehmendem Alter entstehendes „*Mycélium brun*“, beide zusammen entsprechend dem fädigen Mycel *Hartig's*, ferner „*Cordons rhizoides*“, die Rhizoctonien *R. Hartig's*, eine *Rhizomorpha fragilis* var. *subterranea* und eine *Rh. fragilis* var. *subcorticalis*, also dieselben Rhizomorphen wie *Hartig*, und ebenfalls endlich auf der Rinde der Wirtspflanze aufsitzende Sklerotien. Dagegen fügt er zu den von *R. Hartig* schon gefundenen Konidienträgern noch eine ganze Anzahl von Fortpflanzungsorganen und zwar:

1) Chlamydosporen, die sich im fädigen Mycel auf Kosten der birnförmigen Anschwellungen einzeln oder zu zweien hintereinander ausbilden, übrigens nur selten und ausnahmsweise auftreten;

2) Pykniden, die im Innern der Sklerotien entstehen, und in denen von wandständigen Trägern ein- bis dreizellige Stylosporen abgeschnürt werden;

3) endlich Peritheccien, nach denen die *Dematophora* zu den Tuberaceen gehören würde.

Schon als ich den ersten Plan faßte, mich mit dem in Baden bekanntlich als sehr verbreitet geltenden Wurzelschimmel etwas näher zu beschäftigen, war es mir klar, daß ein wirklicher Fortschritt unserer Kenntnisse nur dann zu erwarten sein würde, wenn es gelänge, den Pilz in Reinkultur zu ziehen. *R. Hartig* hat auf Reinkulturen von vornherein verzichtet. Dagegen giebt *Viala* an, auch mit Reinkulturen gearbeitet zu haben. Es fällt jedoch auf, daß er bei der Gewinnung seiner Reinkulturen nicht von den Sporen des Pilzes ausgegangen ist. Freilich gelang es ihm nicht, die Pyknosporen oder die Ascosporen des Pilzes zum Keimen zu bringen. Jedoch glückte das, wenn auch selten, wie das auch *R. Hartig* angiebt, mit den Konidien, die also jedenfalls das bequemste Ausgangsmaterial zur Gewinnung reiner Kulturen bilden würden. Er hat es vorgezogen, mit dem Mycel des Pilzes zu operieren, und schildert

1) *Viala, Pierre*, Monographie du Pourridié des vignes et des arbres fruitiers. Montpellier-Paris 1891.

seine Methode der Reinkultur mit folgenden Worten: „L'on prend des tiges ou des racines de vignes atteintes de pourridié et mortes sous son action, de jeunes plantes tuées en pépinière par exemple. On les met dans des vases cylindriques bouchés à l'émeri et stérilisés. La stérilisation est obtenue à l'autoclave, à l'étuve, ou plus rapidement en lavant à l'alcool absolu les parois du vase et en allumant la dernière couche d'alcool qui reste adhérente. Les tiges ou les racines sont plongées dans un petit cristalliseur stérilisé que l'on fait reposer sur le fond et dans l'intérieur du cylindre; autour du cristalliseur, on met de l'eau stérilisée qui ne mouille pas directement les organes pourridiés. En bouchant le vase cylindrique, on obtient une atmosphère saturée et constante autour des organes en expérience.

Pour éviter le développement des moisissures qui sont souvent à la surface des racines, on lave celles-ci à un fort courant d'eau pendant plusieurs heures, on les plonge ensuite dans de l'eau stérilisée refroidie en les secouant fortement pendant quelques instants. On n'est pas certain d'une pureté parfaite, mais en multipliant le nombre des cultures on en obtient un assez grand nombre de pures. C'est le procédé de stérilisation qui donne les meilleurs résultats quand on veut pratiquer les inoculations sur des racines vivantes. Pour des tissus morts, on peut mieux réussir par un autre procédé que nous examinerons<sup>1)</sup>.

Diese Methode, durch Abwaschen mit Wasser eine Reinkultur des Pilzes zu erhalten, habe ich überhaupt gar nicht versucht, da ich fest überzeugt bin, daß man auf diese Weise zu einer wirklichen Reinkultur nicht gelangen wird, und wenn man die Zahl der Einzelversuche noch so sehr vergrößert. Mostgelatineplattenkulturen von der Oberfläche auch solcher Wurzelstöcke, welche längere Zeit unter der Wasserleitung abgespült waren<sup>2)</sup>, zeigten eine äußerst reiche Pilzflora nicht nur, was die Zahl der Individuen, sondern auch, was die Zahl der Arten betrifft. Penicillien verschiedener Art, Aspergillus, sehr häufig Botrytis, äußerst zierliche und interessante Mucorformen blieben nie aus. Das Waschen kann ja auch höchstens die Sporen, aber nicht, oder nur zum Teil, Mycelien entfernen. Es bliebe also die zweite Methode zu prüfen, die Viala angewendet hat.

„Si les plantes sont envahies en même temps par le Pourridié et par les moisissures<sup>3)</sup>, il suffit de les plonger pendant un quart d'heure dans une solution de sulfocarbonate de potassium, à 1‰ ou à 1%. On les remet ensuite dans les vases cylindriques, leur base plongeant dans une solution, au même titre, de la même substance. Les moisissures sont tuées et ne se développent plus. Le mycélium sous-cortical produit, au bout de trois semaines ou d'un mois, de très beaux flocons blancs, qui, dans ce milieu minéral, se répandent en abondance sur les parois du vase et à la surface du liquide. Le sulfocarbonate n'a donc pas d'action nocive sur le

1) Viala, p. 39.

2) Das benutzte Leitungswasser ist sehr arm an Keimen, besonders aber an Schimmelsporen.

3) Das ist nach meinen Erfahrungen ganz ausnahmslos der Fall, auch kaum anders möglich.

Pourridié, quoiqu'il soit actif contre les moisissures; il favorise au contraire son développement<sup>1)</sup>).

Nach den Untersuchungen Hansen's, Jörgensen's u. A. wird man wenig geneigt sein zu dem Glauben, daß man durch Anwendung und Zusatz irgendwelcher Chemikalien zu einer Reinkultur kommen könnte. Nach den positiven Angaben Viala's aber war die Nachprüfung um so mehr geboten, als ich auf diese einfache Weise ja ganz mühelos zu den gewünschten Reinkulturen hätte gelangen können. Leider entsprach das Ergebnis der Nachprüfung ganz und gar nicht den Angaben Viala's.

Zunächst wurden 1- und 0,1-proz. Lösungen von Kaliumsulfokarbonat in destilliertem Wasser bereitet und davon in je zwei kleine Glaszylinder (Wageröhren) mit eingeschliffenem Stopfen je 20 ccm gebracht. Weder die Lösungen noch die Glasgefäße wurden sterilisiert, letztere nur vor dem Einfüllen mit der entsprechenden Lösung ausgespült, da ja nach Viala das Sulfokarbonat selbst die Pilzkeime töten soll, Bakterienkeime aber für unsere Ziele nicht in Betracht kommen.

In zwei der Röhren, eine mit 0,1-, die andere mit 1-proz. Lösung gefüllt, brachte ich mit sterilisierter Pincette je ein Stück eines mit Watte und Rhizoctonien bedeckten, wurzelschimmelkranken jungen Rebstockes aus dem Rebberg, schüttelte tüchtig durch und ließ die Lösungen 20 Minuten einwirken. Dann wurde wieder umgeschüttelt und zunächst je 1 ccm der Flüssigkeit mit sterilen Pipetten aufgesogen und zu einer Mostgelatineplatte ausgegossen. Schon nach 3 Tagen waren in beiden Fällen die Platten von Schimmelkolonien bedeckt, und zwar besonders von *Penicillium* und *Aspergillus*; daneben erschienen *Mucor*formen und *Botrytis*. Die mit der 1-proz. Lösung ausgegossene Platte wies sogar noch eine etwas üppigere Flora auf als die andere, obgleich beide Holzstücke ziemlich gleich groß waren. Von einer pilztötenden Wirkung des Kaliumsulfokarbonats kann also bei dieser Form der Anwendung keine Rede sein. Nach 30 Minuten Einwirkung wurden beide Holzstücke in je 50 ccm einer aus Rohrzucker, Ammonitrat etc. bereiteten Nährlösung gebracht mit Hilfe sterilisierter Pincetten. Am 3. Tage schon wiesen beide (vor der Impfung natürlich sterilisierte) Kolben eine üppige Pilzflora auf, in der *Penicillium* entschieden dominierte, wurzelschimmelähnliche *Mycelformen* dagegen sehr zurücktraten. Das bestätigt unseren Schluß und beweist, daß auch längere Einwirkung des Salzes wenigstens die Sporen vieler verbreiteter Pilze nicht tötet. Als der Versuch mit reinem Sporenmaterial von *Penicillium glaucum* Lk. wiederholt wurde, erwies sich auch diesmal das Kaliumsulfokarbonat in beiden Konzentrationen als ohnmächtig, die Keimfähigkeit der Sporen zu zerstören.

Endlich wurden größere Abschnitte von kranken Wurzeln und kranken „Wurzelstöcken“ (den unterirdischen Stammteilen der Kulturreben; sit venia verbo!) ganz nach der Vorschrift Viala's zunächst 15 Minuten in die wie vorhin bereiteten Kaliumsulfokarbonatlösungen

1) Viala, p. 40.

getaucht und dann mit sterilisierten Pincetten in sterile hohe Flaschen übergeführt, auf deren Boden man eine Portion derselben Lösung brachte, in welche die Holzstücke mit ihrer Basis tauchten. Wie Viala angiebt, wächst nach einiger Zeit der „Wurzelschimmel“ in Form weißer Watten und Rhizoctonien üppig auf dem Holz und auf der Lösung. Aber diese Rasen erwiesen sich ebenfalls nicht als rein. Und das erklärt sich, auch wenn wir eine gewisse pilztötende Wirkung des Kaliumsulfokarbonats annehmen, die aber nach den oben mitgeteilten Versuchen ja nur minimal sein kann, einfach aus der Beobachtung, daß die Lösungen sehr bald ihre Färbung verlieren: Das Salz zersetzt sich, und damit hört sowohl seine vielleicht vorhandene entwicklungshemmende als auch seine mehr als fragliche pilztötende Wirkung natürlich auf.

Soweit mir wurzelschimmelkranke Reben zu Gesichte kamen, fand sich an ihnen der Wurzelschimmel nur in Form von Watten und Rhizoctonien. Konidienträger und Konidien, mit Hilfe deren auch bei den bekannten von Hartig und Viala geschilderten Schwierigkeiten, die sie der Keimung in den Kulturen entgegensetzen, die Isolierung relativ leicht und bequem gewesen wäre, sind mir leider nirgends aufgestoßen. Plattenkulturen, geimpft mit Aufschwemmungen des zerfaserten Mycels in Wasser, ergaben, wie schon bemerkt, wohl eine große Fülle verschiedenartiger Schimmelpilze, aber keine *Dematophora*-Kolonieen. Einige Versuche, bei denen Mycelstücke mit sterilem Sand in sterilem Wasser zerrieben und dann kräftig geschüttelt wurden, ergaben das gleiche negative Resultat, so daß von dieser Methode gleichfalls Abstand genommen werden mußte.

Ausgehend von der durch die Beobachtung des Wurzelschimmels nahe gelegten Vermutung, daß der Pilz sich nicht nur durch eine große Wachstumsenergie, sondern auch durch eine Fähigkeit, noch bei relativ niedriger Sauerstoffspannung zu wachsen, vor anderen auszeichnen müsse, wählte ich dann eine andere Art der Versuchsanstellung, um zu Reinkulturen zu gelangen. Ich will gleich vorausschicken, daß das Resultat bezüglich des von Hartig als *Dematophora necatrix* bezeichneten Pilzes ebenso negativ war wie bei den anderen Methoden, daß jedoch ein anderer, höchst interessanter Pilz isoliert wurde, der allem Anschein nach auch Viala vorgelegen hat, von ihm aber zu *Dematophora* gestellt wurde.

Es wurden Rebholzspähne mit Sägemehl innig gemischt und mit dieser gut angefeuchteten Mischung unten tubulierte Flaschen angefüllt, deren oberster Teil glockenförmig auf den unteren aufgeschliffen war (Flaschen mit aufgeschliffener Glocke, von Ehrhard und Metzger für meine Zwecke angefertigt). Die Höhe der möglichst festgestampften Holzschicht betrug 100—120 mm. Der Tubulus der Flasche wurde mit Korkstopfen, der Flaschenhals mit Watte verschlossen und das Ganze im Dampfkochtopf sterilisiert. Dann brachte ich auf die Oberfläche des Holzmehls eine Spur von den Rhizoctonien des rohen Materials und überließ das Ganze sich selbst. Auf der Oberfläche erschienen bald verschiedene Schimmelpilze, die auch in die Tiefe des Holzmehls hineinwachsen. Es ließ

sich aber, wie auch vermutet war, leicht beobachten, daß die verschiedenen Pilze mit sehr ungleicher Schnelligkeit nach unten wuchsen. Sobald im Holz am Tubulus Pilzwachstum zu sehen war, wurde durch den geöffneten Tubulus davon abgeimpft und zunächst auf ein zweites ebenso vorbereitetes Kulturgefäß übertragen. Es zeigte sich aber bereits bei den ersten Versuchen, daß bei einiger Aufmerksamkeit schon das Material, das bei der ersten Abimpfung erhalten wurde, regelmäßig eine Reinkultur war, und zwar wurde in 7 unter 8 Fällen regelmäßig der im Folgenden bezüglich seiner physiologischen Eigenschaften etwas näher zu schildernde Pilz erhalten, während in einem Falle allerdings ein *Mucor* ihn in dem Wettrennen zum Boden des Kulturgefäßes hin geschlagen hatte.

Der so erhaltene Pilz, den ich im Folgenden der Kürze halber als *Pseudo-Dematophora* bezeichnen will, wächst auf den verschiedensten Substraten (Brot, Reismehl, Früchte, Holz u. s. f.) als ein glänzend weißes Mycel, bestehend aus zahlreichen, vielfach durch Anastomosen verbundenen Mycelfäden von sehr verschiedener Breite. Vielfach sind, wie bei *Dematophora necatrix* R. Hartig, die einzelnen Zellen der Fäden an ihrem akropetalen Ende birn- oder kugelartig angeschwollen. Diese Anschwellungen sind, besonders in üppigen Kulturen, oft durch eine Querwand von dem fädigen Teile der Zelle abgetrennt. Sie sind dann reich mit plasmatischem Inhalte, der bei Jodzusatz dunkelbraun wird, erfüllt und liegen häufig in Ketten zu mehreren hinter einander. Von den Chlamydosporen, welche *Viala* beobachtete, unterscheiden sie sich nur dadurch, daß sie in meinen Kulturen nicht nur überhaupt weit reichlicher, sondern auch in weit reichgliederigeren Ketten auftraten. Drei- bis achthgliederige Ketten waren keine Seltenheit. In besonders üppigen Kulturen auf zerkleinertem Rebholz wurden sie auch bis zu zwölf aneinander gereiht gefunden. Hier fanden sie sich besonders im Innern der Kultur dicht über dem Wasserspiegel am Boden des Kulturgefäßes. *Viala* fand sie nur selten und nur beim Wachstum des Mycels auf und in Wasser oder wäßrigen Lösungen<sup>1)</sup>. Trotzdem ist es nicht ausgeschlossen, daß *Viala* bei diesen Beobachtungen denselben Pilz vor sich hatte, den ich isolierte. Andere Organe wurden nicht gefunden, und da die *Pseudo-Dematophora* bei einigen Versuchen, auf die wir später zurückkommen, sich auch als durchaus nicht pathogen erwies, so hätte sie kein Interesse für mich gehabt, wenn nicht die Ueppigkeit ihres Wuchses auf Holz mich dazu bewogen hätte, ihre physiologischen Eigenschaften etwas näher zu studieren, da die Vermutung nahe lag, es mit einem Holzschädling schlimmster Sorte zu thun zu haben.

(Schluß folgt.)

---

1) *Viala a. a. O.* p. 49.

## Referate.

**Fischer, A.,** Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Mit 3 lithographierten Tafeln. Jena 1897.

Ref. glaubt nicht zu viel zu sagen, wenn er behauptet, daß die vorliegende Arbeit einen Markstein in der Entwicklung unserer Kenntnisse über den Zellinhalt der Bakterien und Cyanophyceen bildet. Sie schließt sich der früheren Arbeit Fischer's über die Plasmolyse der Bakterien sowie seinen Untersuchungen über Bakterien würdig an.

Der erste Abschnitt ist dem Nachweise gewidmet, daß die üblichen Färbungsmethoden nicht, wie meist offen ausgesprochen oder stillschweigend angenommen wird, auf einer eintretenden chemischen Verbindung zwischen Farbstoff und Gewebeelementen beruhen, sondern auf rein physikalischen Ursachen, auf Oberflächenattraktion und Adsorption. Aus der Gleichheit der Färbung darf also keineswegs auf gleiche chemische Zusammensetzung geschlossen werden, mit anderen Worten: Die Farbstoffe sind keine chemischen Reagentien. Es giebt also insbesondere auch keine spezifischen Kernfarbstoffe, keine Farbstoffe, die als spezifische Reagentien auf Nukleinkörper oder Zellkerne angesehen werden dürften.

Dann wendet sich Verf. den Cyanophyceen zu, bei denen ein farbloser Centralkörper umgeben ist von einem meist hohlcylindrischen Chromatophor, das seinerseits von der Wand durch einen protoplasmatischen Wandbeleg getrennt wird. Der Centralkörper ist kein Zellkern, der den Cyanophyceen überhaupt fehlt, sondern weiter nichts als der vom Chromatophor umgebene Hauptteil des Protoplastes. Die Färbbarkeit der in dem Centralkörper vorkommenden Granulationen ist kein Grund, dieselben für Chromatinkörner zu halten.

Bei den Schwefelbakterien ist, entgegen Bütschli's Angaben, der Farbstoff gleichmäßig in der ganzen Zelle verteilt. Ein Centralkörper, wie er bei den Cyanophyceen existiert, fehlt also. Nur in schwefelreichen Individuen wird ein solcher dem Beobachter vorgetauscht; der scheinbare Centralkörper in solchen Zellen ist jedoch weiter nichts als der innere, durch die Schwefelkörner zusammengedrückte Teil des Protoplastes; die dichter zusammengeschobenen Wände des vakuoligen Inhalts färben sich etwas stärker, sind aber deshalb nicht als Kernäquivalent zu deuten. Schwefelfreie Chromatien besitzen keinen Centralkörper.

Da es keine spezifische Kernfarbstoffe giebt, so kann man auch die Deutung der Bakterien als protoplasmafreie oder -arme Kerne nicht mit ihrer starken Färbbarkeit mit solchen begründen. Die echten Bakterien besitzen einen Centralkörper ebenso wenig wie die Schwefelbakterien. Wo ein solcher in gefärbten Präparaten durch die schwächere Färbung der Zellenden vorgetauscht wird, da beruht das auf eingetretener Plasmolyse. Bei entsprechender Fixierung der

Zellen mit Jodalkohol, Osmiumsäuredämpfen etc. treten solche Kunstprodukte nicht auf. Der Inhalt der Bakterienzelle gliedert sich in einen plasmatischen Wandbeleg, der der Membran anliegt, und eine oft septierte Vakuole, bildet also ein den Zellen der höheren Pflanzen gleichendes osmotisches System, ein Zellkern ist mit den jetzigen Methoden nicht nachzuweisen. Stärker färbbare Körnchen in der Zelle sind wahrscheinlich Reservestoffe. Von den Cyanophyceen entfernen sich übrigens sowohl die echten wie die Schwefelbakterien in ihren verwandtschaftlichen Beziehungen recht weit, dagegen bestehen nähere Beziehungen zu den Flagellaten.

Drei gut ausgeführte Tafeln gereichen dem Werke zum besonderen Schmuck.

Möge das schöne Werk, abgesehen von den positiven Fortschritten unserer Kenntnisse, die wir ihm verdanken, auch darin reformierend wirken, daß mancher Bakteriologe daraus die Lehre entnehme, die Organismen auch schon im lebenden Zustande der Beobachtung zu würdigen und sich nicht ausschließlich mit dem Studium der gefärbten Leichen zu begnügen. Eine Reaktion gegen die letztere Richtung ist gewiß am Platze.

Behrens (Karlsruhe.)

**Rodsewitsch, W. W.**, Ein neuer pigmentbildender Saprophyt. (Wratsch. 1897. No. 15 p. 436.)

In dem sehr nassen Sommer 1896 untersuchte Verf. gelegentlich in der Umgegend von Samara den Schmierbrand des Weizens (*Tilletia levis*, fam. *Ustilagineae*) mikroskopisch und bakteriologisch und fand auf den davon ergriffenen Weizenähren *Bac. megatherium*, *Microc. tetragenus* und *Microc. roseus*, sowie ein noch nicht beschriebenes Stäbchen. Dasselbe ist sehr fein und kurz etwa  $0,5\ \mu$  lang, wächst auf den gebräuchlichen Nährböden gut bei Temperatur zwischen 20 und  $37^{\circ}\text{C}$  und fällt auf durch seine gelben, wachsartigen wie mit Lack bedeckten Kolonien auf Agar. Gleichzeitig wird ein intensiv gelber Farbstoff ausgeschieden. Besonders üppig ist das Wachstum auf Kartoffeln und Traubenzuckeragar, welche nach 1—2 Monaten total gelb gefärbt werden. Auch Bouillon, in welcher der *Bacillus* sowohl an der Oberfläche in Form gelber, zarter Häutchen, als auch in der Tiefe in Gestalt eines ziemlich mächtigen Bodensatzes wächst, wird gelb gefärbt. Im Stiche wird Gelatine schnell trichterförmig verflüssigt. In Agar mit und ohne Zusatz von Glycerin oder Traubenzucker findet Wachstum im Strich wie im Stich statt; im Stich ist die Vegetation verlangsamt.

Das Stäbchen zeigt im hängenden Tropfen Eigenbewegung, färbt sich mit Anilinfarben gut, Gram — positiv. Sporenbildung findet scheinbar nicht statt, da Erwärmung 1 Stunde auf  $70^{\circ}\text{C}$  die Stäbchen abtötet. Für Meerschweinchen subkutan nicht pathogen.

Ob das Stäbchen für den Weizen irgendwie schädlich ist und ob es vielleicht in einem Zusammenhange mit dem Schmierbrand steht, läßt Verf. unentschieden.

Ucke (St. Petersburg.)



**Dehérain, P. P.**, Ueber die Reduktion der Nitrate in der Ackererde. (Compt. rend. de l'Acad. d. sciences. 1897. I. Sem. p. 269 ff.)

Die Untersuchungen des Verf.'s wurden veranlaßt durch die laut gewordenen Befürchtungen, die im Stalldünger enthaltenen denitrifizierenden Mikroorganismen könnten zu einer ernstlichen Gefahr für den Landbau werden. Um diese Gefahr zu beseitigen, ist vorgeschlagen worden, dem Dünger vor seiner Ausbreitung auf dem Felde Schwefelsäure zuzusetzen. Die Zweckmäßigkeit dieses Verfahrens unterzog Verf. ebenfalls einer Prüfung. Die erwähnten Arbeiten führten zu dem Schlusse, daß der Schwefelsäurezusatz unnütz ist, weil die denitrifizierenden Bakterien ihre Wirkung nur dann ausüben, wenn sie in ungeheuren, niemals zur Anwendung gelangenden Mengen dem Boden zugeführt werden. Ein solcher Zusatz ist aber dem Verf. zufolge nicht nur unnütz, sondern geradezu verderblich, weil man, statt eines auf jedem Boden mit Vorteil zu verwendenden Düngers, auf die Felder nur noch ein Gemenge von Stroh, Kalium- und Ammoniumsulfat bringen würde, welches nicht für alle Bodenarten paßt.

Moritz (Berlin).

**Berlese, Amedeo**, Verhalten der Saccharomyceten an den Weinstöcken. Abhandl. I. u. II. Ueber die Verteilung der alkoholischen Fermente in der Natur. Abhandl. III. Untersuchungen über die Transportmittel der alkoholischen Fermente. (Rivista di patologia vegetale. Anno V.)

Obwohl die in der Litteratur vor den Arbeiten B.'s über diesen Gegenstand gemachten Angaben die Verbreitung einiger Saccharomyceten in bestimmten Epochen festgestellt haben, so haben sie doch nur wenig zur Lösung der Frage beigetragen, wo sich diese Wesen während des Winters aufhalten und wie sie ihren Aufenthaltsort im Winter verlassen, um auf die Oberfläche der zuckerhaltigen Früchte und in andere zu ihrer Entwicklung geeignete Stellen zu geraten.

B. hat vor allem auf Grund einer langen Reihe von genauen Experimenten unsere Kenntnisse über die gewöhnliche Verbreitungsweise der alkoholischen Fermente in der Natur und ihren Uebergang auf reife Früchte erweitert.

Er erörtert die erste Frage in zwei Abhandlungen und die andere in einer dritten Abhandlung.

Die Substanzen, welche B. vom zymologischen Gesichtspunkte aus untersuchte, waren: Erde aus einem Weingarten, Erde aus einem Walde, Rinde von Weinstöcken und anderen Bäumen, andere Organe von Weinstöcken und von verschiedenen Pflanzen (Blätter, Blumen, Früchte u. s. w.), Insekten und andere kleine Tiere, Luft.

Die Untersuchungsmethode war die folgende: Das zu prüfende Material wurde entweder in den Most getaucht und nach längerer oder kürzerer Zeit aus demselben entfernt oder blieb in demselben bis zu Ende des Experimentes, oder wurde tüchtig in Wasser gewaschen, welches man dann dem Moste zufügte. Das Sammeln des Materials geschah auf folgende Weise:

Die zum Experimente bestimmten Gefäße (Eprouvetten oder

Erlenmayer'sche Flaschen von 50—100 ccm) wurden in geeigneter Weise bei 150—160° sterilisiert und mit Baumwolle zugestopft; man brachte in dieselben den sterilisierten Most (fraktionierte Sterilisation in dem Koch'schen Ofen) und dann mit gehörigen Vorsichtsmaßregeln das zu untersuchende Material (Erde, Insekten, Rinde von Weinstöcken u. s. w.), oder man ließ einen Luftstrom durch den Most gehen, oder aber man ließ das Gefäß offen, damit der Most mit der Luft in Kontakt blieb. Die Experimente wurden im Parke der Hochschule für Bodenkultur in Portici und am Fuße des Vesuvus von April bis Dezember (1896) öfters, und zwar in jedem Monate, wiederholt, und ergaben folgende Resultate:

Das Terrain des Weingartens und des Waldes im Parke der Hochschule enthält von April bis Juni *Saccharomyces apiculatus*, *S. ellipsoideus* und *S. Pasteurianus*, ferner verschiedene Formen von *Torulopsis*, Milch- und Butterfermente, viele andere Bakterien, *Mucor Dematium* und zahlreiche andere Schimmelpilze.

Die Saccharomyceten finden sich bis zu einer Tiefe von 10—12 cm im Weingarten und bis zu 4—36 cm im Walde; im ersteren werden sie seltener im Juni und fehlen ganz im Juli. *S. apiculatus* zieht das Terrain unter Weinstöcken, Fruchtbäumen und alten Bäumen mit dicker und rauher Rinde vor. Es scheint, daß er bis Juni sowohl an sonnigen wie an schattigen Stellen gleichmäßig verteilt ist und nur dort in geringerer Menge vorkommt, wo das Sonnenlicht direkt einwirkt; er zeigt jedoch große Widerstandskraft gegen die Sonne, indem seine Lebensfähigkeit sich bis zu 57° erhält.

*S. apiculatus*, *ellipsoideus*, *S. Pasteurianus*, *Torulopsis*, *Mucor*, *Dematium* u. s. w. halten sich mit Vorliebe in der dicken und rauhen Rinde der Eichen und Oliven auf. Die Zahl der Zellen ist ganz unabhängig von der Art der Bäume, von der Nachbarschaft von Weinstöcken oder Fruchtbäumen. Im allgemeinen findet man *S. apiculatus* mehr an sonnigen und *S. Pasteurianus* mehr an schattigen Stellen.

Auf den Trauben, sowie auch auf den Beeren und am Stiele, welche einzeln untersucht wurden, ferner auf jungen Zweigen der Weinstöcke konnten bis Juni keine alkoholischen Fermente angetroffen werden.

Auf den Blüten der nektarhaltigen Pflanzen kommt zuweilen *S. apiculatus* vor. Unter den Insekten, welche dieselben aufsuchen, zeigen sich zuweilen bei *S. apiculatus* *Vespa Crabro*, seltener andere Hymenopteren, wenige Tagfalter, Dipteren, Coleopteren.

In der Luft kommen in den Monaten April und Mai keine alkoholischen Fermente vor; Ende Juni und Juli trifft man aber in derselben zuweilen *S. apiculatus* an.

Auch auf den Insekten sieht man zuweilen Saccharomyceten. *Torulopsis* und Schimmelpilze kommen immer in größerer Zahl auf denselben vor. Noch seltener sind die Bakterien. Die verschiedenen Insekten zeigen beträchtliche Differenzen rücksichtlich der Quantität und der Art der Fermente, und es scheint, daß dies von ihrer Lebensweise und der Natur ihres Integuments abhängig ist.

An *Sarcophaga carnaria*, *Lucilia Caesar* und *Vanessa atalanta* hat A. oft *S. ellipsoideus* nachweisen können.

Nachdem B. in den vorausgehenden zwei Arbeiten die Verbreitung der alkoholischen Fermente in der Natur untersucht hat, teilt er in der dritten Abhandlung die Ergebnisse seiner Studien mit über die Verbreitungsweise derselben, d. h. über die Mittel, welche gewöhnlich dazu dienen, um die Fermentknospen oder Sporen von einem Orte auf einen anderen zu übertragen.

Da B. in Uebereinstimmung mit *Boutroux*, *Müller-Thurgau* und anderen Forschern daran zweifelte, daß der Luft in dieser Beziehung eine wesentliche Rolle zufallen könnte, suchte er nach anderen Faktoren, welche ev. zur Verbreitung jener Fermente beitragen und dieselbe zu einem lebhaften Prozesse gestalten könnten. Er untersuchte zu diesem Zwecke zuerst die gewöhnlichsten Insekten, die häufig mit Substanzen in Berührung kommen, welche alkoholische Fermentation eingehen oder sich schon in derselben befinden, und wendete seine Aufmerksamkeit zunächst den Fliegen und Ameisen zu, welche, wie schon die vorausgehenden Experimente zeigten, oft Fermente führen und kontinuierlich Trauben und andere Früchte, überhaupt zuckerhaltige Substanzen aufsuchen. In ganz besonderer Weise aber mußten die Mücken (*Drosophila cellaris*) berücksichtigt werden, die fortwährend und in unendlicher Menge den Most und Weinreste besuchen und scharenweise sich in nicht genügend bewachten Weinkellern aufhalten.

B. wendete besondere Untersuchungsmethoden für die Ameisen, und andere für die Fliegen an, wegen der Verschiedenheit ihrer Lokomotionsart. Die Ameisen leitete er auf einer künstlichen Straße, welche mit Substanzen verstopft war, von denen angenommen werden konnte, daß sie Fermente enthalten und gewöhnlich von Ameisen aufgesucht werden, und brachte sie schließlich mit sterilisierten Weintrauben zusammen, die dann in Fermentation übergingen.

Bezüglich der Fliegen wurden verschiedene äußere und innere Teile des Körpers untersucht. Die Experimente, welche B. ausführte, sind sehr zahlreich und verschieden und streng methodisch, so daß sie genügende Bürgschaft für die Exaktheit der Resultate liefern. Es können selbst die wichtigsten derselben an dieser Stelle nicht beschrieben werden, ohne die Grenzen eines Berichtes zu überschreiten, und es empfiehlt sich deshalb einfach auf die Schlußfolgerungen B.'s hinzuweisen, welche überzeugend genug sind, da sie in logischer und befriedigender Weise Thatsachen erklären, welche von vielen Beobachtern konstatiert wurden und über deren Ursachen die Arbeiten nicht weniger Autoren nur unvollkommene Resultate zu Tage förderten.

Schlußfolgerungen: 1) Die alkoholischen Fermente werden von Ameisen, Fliegen und Mücken transportiert und auf Trauben übertragen.

2) Die alkoholischen Fermente gehen lebend durch den Verdauungskanal von Dipteren und es scheint, daß diese hierdurch gar keinen Schaden erleiden.

3) Die alkoholischen Fermente vermehren sich lebhaft im Darmkanale der Dipteren, wenn die Bedingungen der Temperatur und des Substrats hierzu geeignet sind.

Die Ablegung der alkoholischen Fermente erfolgt größtenteils durch Defäkation; es können sich jedoch auch von den Extremitäten Fermentsporen oder Knospen abtrennen. In den Experimenten wurden alkoholische Fermente auf das Fleisch auch vermittelt der Luft des Fensters des Laboratoriums übertragen, allein in geringerem Grade, und zwar im Verhältnisse ungefähr 26 mal weniger als durch die Fliegen. An anderen Orten (Wald, Weingarten) erhielt man eine Uebertragung auf Weintrauben bloß durch die Dipteren und nie vermittelt der atmosphärischen Luft.

Wenn man noch berücksichtigt, daß Fermente in diesen Insekten häufig vorkommen, während sie in der Luft nur sehr selten anzutreffen sind, daß sie sich ferner im Darmkanale derselben auch vermehren, dann muß geschlossen werden, daß von diesen zwei Medien, den Insekten bei der Uebertragung der alkoholischen Fermente der größere Teil zugesprochen werden muß und daß hierbei die atmosphärische Luft eine bei weitem geringere Rolle spielt.

Bezüglich der Ameisen scheint es, daß die Uebertragung namentlich diejenigen vermitteln, welche sich in Höhlungen der Pfähle, oder von Bäumen in der Nähe der Weinstöcke aufhalten, da in diesen alkoholische Fermente häufig vorkommen. Die Untersuchung verschiedener Teile der in Rede stehenden Insekten, in denen Fermente vorzukommen pflegen, ergab, daß der Verdauungskanal einen geeigneten Boden zur Konservation und Vermehrung der Zellen der Saccharomyceten darstellt und daß die in denselben vorkommenden verschiedenen Verdauungssäfte der Vitalität derselben gar keinen Eintrag thun, ja daß sie, nachdem sie das ganze Verdauungsrohr durchlaufen und mit den Faeces entleert wurden, in demselben oder in noch besserem Zustande sich befinden, als vor der Einwanderung in das Tier selbst.

Der Darmkanal der Dipteren stellt außerdem ein Centrum dar, wo wenigstens unter gewissen Verhältnissen eine Vermehrung jener Zellen stattfindet. Denn es geht aus den Experimenten hervor, daß eine Fliege, die z. B. 500 Zellen von *S. apiculatus* auf einmal aufnimmt, nach 10 Tagen ungefähr 3500 entleert, wenn die Natur des Substrats im Darmkanal eine derartige ist, daß sie eine Vermehrung jener Zellen zuläßt.

Wenn man erwägt, daß die Fliegen in 10 Tagen ungefähr 500 000 Zellen in sich aufnehmen (eine Annahme, die nach den Experimenten B.'s der Wahrheit sehr nahe kommt) und daß die Dipteren im allgemeinen, namentlich aber gewisse Formen derselben sich mit Vorliebe von zuckerhaltigen Substanzen nähren, dann müßten sie in derselben Zeitdauer nicht weniger als 35 Millionen Zellen entleeren, welche mehr oder weniger zerstreut werden, und zwar oft auf Stellen, an denen sie zu ihrer weiteren Vermehrung wieder einen geeigneten Boden finden. Die Wichtigkeit dieser Vermehrungscentren wird, wie B. sagt, in höherem Grade aus einer anderen Arbeit hervorgehen, in welcher er auf Grund von Untersuchungen über die Biologie derjenigen Insekten, welche in der hier in Rede stehenden Frage am meisten in Betracht kommen, und über das Verhalten der Fermentzellen im Darmkanale dieser Insekten unter dem Einflusse

von verschiedenen Nahrungsmitteln und anderer Agentien, in besonderer Weise über die Cirkulation der alkoholischen Fermente in der Natur handeln wird.

Bemerkenswert, sagt B., ist auch die Thatsache, daß im Darmkanale der Fliegen, aus den Ascosporen von *S. ellipsoideus* und *S. Pastorianus*, und zwar, auch wenn sie in einer Flüssigkeit, die, wie z. B. Fleischsaft, zu ihrer Entwicklung ungeeignet ist, dahin gelangen, sich Zellen herausbilden, welche sich im Darmkanale selbst durch Knospung weiter vermehren. Dies beweist nicht nur, daß die Saccharomyceten während ihres Aufenthaltes im Darmkanale jener Insekten gar keinen Schaden erleiden, sondern daß sie in demselben auch geeignete Bedingungen zu ihrer weiteren Entwicklung finden können. Die Ursache dieser Erscheinung ist nach B. in der Natur des Darminhaltes der Dipteren zu suchen, da, wie auch die direkte Untersuchung nachwies, im Kropfe derselben oft ein zuckerhaltiger Inhalt angetroffen wird. Diese Thatsachen beweisen, daß alkoholische Fermente, welche unter beliebigen Verhältnissen, aber lebend in den Darmkanal der Fliegen geraten, aus diesem mit den Faeces in unverändertem Zustande entleert werden können, und daß sie hiernach noch einer weiteren Vermehrung fähig sind, wenn die Faeces auf geeigneten Boden fallen. Die Beobachtungen B.'s scheinen sogar zu beweisen, daß in gewissen Fällen die Lebhaftigkeit der alkoholischen Fermente bei ihrem Durchtritten durch den Darmkanal der Fliegen gesteigert wird <sup>1)</sup>.

Wie B. sagt, kann der Darmkanal gewisser Dipteren, wenigstens in den von ihm untersuchten Gegenden, auch als eine Art Winteraufenthaltort, namentlich des *S. apiculatus* und des *S. ellipsoideus*, angesehen werden, da sie während des Winters daselbst angetroffen wurden. Diese Thatsache jedoch gedenkt B. nebst anderen in einer besonderen Arbeit zu erläutern, in welcher er über den Aufenthaltort der alkoholischen Fermente während jener Jahreszeit handeln wird. B. meint, daß auf Grund der Resultate seiner Experimente die Verteilung der alkoholischen Fermente in der Natur besser, als es früher möglich war, erklärt werden könne; er bemerkt weiterhin, daß schon andere Autoren sich mit dieser Frage beschäftigt haben, und erwähnt namentlich Hansen, der die Verbreitung des *S. apiculatus* mehrere Jahre lang fleißig studierte und der Luft, ferner der Villosität der Glieder, überhaupt des Körpers der Insekten, bei derselben eine besondere Bedeutung zuschrieb.

In der That, meint B., kann es nicht Wunder nehmen, wenn *S. apiculatus* an Zweigen, Blättern, Blüten und den rauen Rinden von Bäumen angetroffen wird, da die Fliegen an denselben, und zwar in der Sonne, gern ausruhen und da eine große Zahl von Zellen durch die Defäkation von diesen Insekten entleert werden können. Derselben Ursache schreibt B. die von ihm hervorgehobene Thatsache zu, daß *S. apiculatus* an den von der Sonne getroffenen Seiten

1) Bekanntlich keimen die Sporidien gewisser *Ascobolus*-Arten besser und rascher, nachdem sie den Darmkanal von Pflanzenfressern durchlaufen haben, ja es scheint, daß sie ihre Keimungsfähigkeit erst darin erlangen, und *Saccharomyces guttulatus* hält sich im Darmkanal jener Tiere auf.

der Stämme verschiedener Bäume häufiger angetroffen wird, als an den schattigen Seiten derselben.

Den Füßen der Insekten kommt nach B.'s Meinung wahrscheinlich nur eine untergeordnete Bedeutung bei der Uebertragung der alkoholischen Fermente und anderer Organismen zu.

Damit die Fermente sich von den Füßen ablösen und auf der Oberfläche, auf der sich die Fliegen befinden, liegen bleiben können, müssen sie geeignete Bedingungen darbieten, d. h. feucht und klebrig sein; die flüssigen und schleimigen Faeces bleiben haften, wie immer die Oberfläche beschaffen sei.

Wenn man, sagt B., der außerordentlich großen Zahl von Zellen Rechnung trägt, welche mit den Faeces entleert werden können, dann muß angenommen werden, daß die Dipteren, welche ja Früchte im allgemeinen, namentlich aber Trauben, häufig aufsuchen, bei der Defäkation beträchtliche Mengen von Ferment auf dieselben ablegen, welche sich dann auch rasch vermehren können, wenn sie an den Wunden und Rissen derselben mit zuckerhaltigen Säften in Berührung kommen. Die Anwesenheit der Insekten erklärt die lebhaftere Fermentation, die an Trauben an solchen Stellen, oder wenn sie lange Zeit im Weingarten liegen bleiben, beobachtet werden kann, da dieselben namentlich während der warmen Jahreszeit von zahlreichen fliegenden Insekten aufgesucht werden, welche dann die Fermente überallhin verbreiten.

Von der Verbreitung dieser letzteren, über den Anteil, den die wichtigeren Insekten an derselben haben, von dem Winteraufenthaltsorte der Fermente, von dem Uebergange dieser auf die verschiedenen Organe der Pflanzen (namentlich auf die zuckerhaltigen Früchte), und vom Zurückkehren der Fermente nach ihrem Winteraufenthaltsorte, gedenkt B. in einer weiteren Arbeit zu handeln.

A. N. Berlese.

**Thaxter, Roland**, Contribution towards a monograph of the Laboulbeniaceae. (Memoirs of the American Academy of Arts and Sciences. Vol. XII. No. 3. p. 193—429. with 26 plates.) Cambridge (John Wilson and Son) 1896.

Die mit zahlreichen Abbildungen auf 26 Tafeln ausgestattete Monographie der merkwürdigen, auf Insekten (und Spinnen) schwartenden Pilze bildet den Abschluß der vieljährigen Untersuchungen auf diesem Gebiete, über die wir früher in dieser Zeitschrift berichtet haben. Die Laboulbeniaceen mit Peritheciën und 4- oder 8-sporigen Schläuchen weichen, wenn sie auch noch vorläufig zu den Ascomyceten zu stellen sind, doch weit von allen anderen Pilzen ab durch die vom Verf. als Antheridien gedeuteten Organe mit endo- oder seltener exogener Spermatienbildung und dem als Trichogyn gedeuteten Fortsatz der Peritheciumanlage. Diese Organe erinnern in der That so sehr an die entsprechenden Sexualorgane der Florideen, daß man ihre analoge Funktion kaum bezweifeln möchte — wenn man auch durch den Nachweis des häufigen Vorkommens von Fusionen bei Pilzen durch Brefeld's Arbeiten zur Vorsicht gemahnt wird und jedenfalls das Verhalten der Kerne der vermeintlichen Sexual-

zellen erst noch studieren muß. Nachdem man weiß, daß Algen verschiedenster Verwandtschaft unter geeigneten Verhältnissen ihre Chlorophyllfunktion aufgeben und somit nach unserer heutigen Bezeichnung zu Pilzen werden können (vergl. *Eomyces Crieanus* etc. [Centralbl. f. Bakteriöl. Bd. XVI. p. 905 ff., II. Abth. Bd. II. p. 351]), möchte man die Familie dieser Insektenschmarotzer dann eher als eine derartige Caenomycetengruppe betrachten als wie eine Unterabteilung der eigentlichen Ascomyceten, zumal auch ein Teil der zugehörigen Arten noch jetzt im Wasser oder an feuchten Orten vorkommt.

Die Laboulbeniaceen sind winzige, bis  $\frac{1}{2}$  mm große, meist dunkel gefärbte Pilzchen auf der Chitinhülle der Insekten, deren Tod sie schließlich herbeiführen. Sie sind auf der dunkeln Chitinhülle schwer zu unterscheiden, daher trotz ihrer großen Häufigkeit bisher fast ganz übersehen worden.

Thaxter beschreibt und bildet ab 152 Arten mit 28 Gattungen, zu denen während der Drucklegung des Werkes noch einige hinzukamen, so daß gegenwärtig 30 Gattungen mit 161 Arten bekannt geworden sind. Die beschriebenen Gattungen sind die folgenden:

I. Endogeneae. 1. Ordn. *Peyritschielleae*: *Dimorphomyces* (2 Arten), *Dimeromyces* (1 Art), *Haplomyces* (3 Arten), *Cantharomyces* (3 Arten), *Eucantharomyces* (1 Art), *Camptomyces* (1 Art), *Enarthromyces* (1 Art), *Peyritschella* (4 Arten), *Dichomyces* (4 Arten), *Chitonomyces* (16 Arten), *Hydraeomyces* (1 Art). 2. Ordn. *Laboulbeniae*: *Amorphomyces* (2 Arten), *Helminthophana* (1 Art), *Stigmatomyces* (3 Arten), *Idiomyces* (1 Art), *Corethromyces* (3 Arten), *Rhadinomyces* (2 Arten), *Rhizomyces* (1 Art), *Laboulbenia* (73 Arten), *Teratomyces* (4 Arten), *Diplomyces* (1 Art), *Rhachomyces* (8 Arten), *Chaetomyces* (1 Art), *Sphaleromyces* (2 Arten), *Compsormyces* (1 Art), *Moschomyces* (1 Art), *Zodiomyces* (1 Art).

II. Exogeneae. Ordn. *Zodiomycetaceae*: *Ceratomyces* (10 Arten).

Zu den Wirten der Laboulbeniaceen zählen:

**Coleoptera**: Carabiden (156 Arten), Halipiden (2 Arten), Dytisciden (8 Arten), Gyriniden (15 Arten), Hydrophiliden (9 Arten), Staphyliniden (50 Arten), Coccinelliden (1 Art).

**Diptera**: Diopsiden (2 Arten), Drosophiliden (2 Arten), Musciden (1 Art), Nycteribiden (3 Arten).

**Neuroptera**: Termites (1 Art) (auf *Termes mozambica*: *Laboulbenia Hageni*).

**Spinnen**: Milben (1 Art) (auf *Antennophorus caputcarabis* findet sich *Laboulbenia armillaris*).

Von 158 Arten der Laboulbeniaceen sind bekannt aus Nordamerika 130, Europa 19, Afrika 14, Südamerika 6, Asien 6, Australien 2.

Nordamerika und Europa sind gemein: *Chitonomyces paradoxus*, *Rhadinomyces pallidus*, *Laboulbenia elon-*

*gata*, *L. cristata*, *L. Gyrinidarum*, *L. luxurians*, *L. Nebriae*, *L. subterranea*, *L. vulgaris*.

Nordamerika und Südamerika haben gemein: *Laboulbenia Guerinii*, *L. variabilis*, *L. polyphaga*.

Nordamerika und Afrika: *Laboulbenia Catascopi*, *L. polyphaga*, *L. elongata* (?).

Südamerika und Afrika: *Laboulbenia Pheropsophi*, *L. polyphaga*.

Afrika und Asien (Japan): *Laboulbenia proliferans*.

Nordamerika, Südamerika und Afrika: *Laboulbenia polyphaga*.

Nordamerika, Afrika, Europa und Asien: *Laboulbenia elongata*.

Nordamerika, Europa und Asien (?): *Laboulbenia vulgaris*.

Die Wasserkäfer, mit Ausnahme der an der Oberfläche lebenden Gyriniden, werden allein von den Arten der Gattungen *Zodiomyces*, *Ceratomyces*, *Hydraemyces*, *Chitonomyces* befallen, von denen die beiden erstgenannten allein exogene „Antherozoidien“ erzeugen. Von den Käfern leben auch sonst viele der *Laboulbeniaceen* wirte an Ufern und feuchten Orten.

Von den 3 Teilen des Pilzes, dem Vegetationskörper (*Receptaculum*), den Anhängseln mit oder ohne „Antheridien“ und den Perithezien, deren Aufbau und Entwicklung Verf. auf Grund eingehender Studien schildert, endet das erstere (aus zwei oder mehreren Zellen bestehend) mit einer schwärzlichen Spitze in der Chitinhülle und muß die Körpersäfte des Insektes durch Osmose aufnehmen, nur in seltenen Fällen (bei *Rhizomyces*) gehen von dem *Receptaculum* Rhizoiden aus. Während manche Arten an allen Körperteilen des befallenen Insektes wachsen, kommen andere nur an bestimmten Körperteilen vor, *L. terminalis*, *L. fumosa*, *L. luxurians* nur am Ende der Flügeldecken und um das Ende des Abdomens, *L. parvula* und *arcuata* an den Beinen, andere am Prothorax etc.

Als Schmarotzer der *Laboulbeniaceen* wurden bei *Ceratomyces* Chytridineen, bei *Laboulbenia* ein halbmondförmiger hefenartiger Organismus gefunden.

Ludwig (Greiz).

**Peglion, Victor**, Eine neue Krankheit des Hanfes (*Bacteriosis* des Stengels). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. VII. 1897. p. 81.)

Bis jetzt kennt man 2 Krankheiten des Hanfes, welche den Stengel befallen, nämlich den Hanfkrebs oder die Sklerotinienerkrankheit, verursacht durch *Sclerotinia Kauffmanniana* Tich. und *Dendrophoma Marconii*. Zu diesen beiden kryptogamen Krankheiten kommt noch eine dritte, bis jetzt nicht beschriebene Krankheit, die glücklicherweise sehr wenig verbreitet zu sein scheint. Schon das äußere Ansehen der Stengel ließ vermuten, daß die Krankheit durch einen kryptogamen Organismus verursacht wird. Die ganze Länge des Stengels zeigt zahlreiche, unregelmäßige ovale, etwas leicht vorspringende, weißgraue Flecken mit rissiger Oberfläche. Diese Flecken nehmen nur einen beschränkten Teil des Stengelumfangs ein, während



sie in der Längsrichtung desselben mehr als 10 cm Ausdehnung erreichen können, wobei die Veränderung, welche der Hanfstengel erleidet, ganz verschieden von derjenigen ist, die durch *Sclerotinia Kauffmanniana* Tich. hervorgebracht wird. Hält man erkrankte Stengelstücke in der feuchten Kammer, so werden die erkrankten Stellen leicht aufgetrieben, der Länge nach aufgerissen, und aus den Spalten treten gelbe, leicht getrübte Tröpfchen hervor, die sich als Zoogloeazustände von Bakterien erweisen. Das Studium der erkrankten Stellen an frischen, direkt in Alkohol eingelegten Stengeln, ergibt mit Sicherheit, das ursprünglich kein Mycelium vorhanden ist. Unter dem Mikroskope bemerkt man an den in Auflösung begriffenen Zellen Wolken, die sich als Bakterienmassen in unregelmäßiger Zoogloenform ausweisen. In der Mehrzahl der Fälle überschritt die Krankheit nicht die Grenze der Peripherie des Holzkörpers, doch trat sie in einzelnen Fällen auch auf den Holzkörper über. Sobald die Epidermis mit dem darunter liegenden Collenchym abgestorben sind, heben sie sich vom Stengel in Form kleiner Schuppen ab, die pericyclischen Faserbündel, welche die Herde darstellen, finden sich nun direkt den äußeren Einflüssen ausgesetzt und verändern sich, sie werden brüchig und fasern auseinander, so daß die Handelsware jeden Wert verliert. Die Bacillen, welche die schleimigen Zoogloen bilden, lassen sich sehr leicht in gewöhnlichen Nährmedien kultivieren. Ihre charakteristischen Merkmale ähneln durchaus denen des *Bacillus Cubonianus*<sup>1)</sup>, des Parasiten des Maulbeerbaumes. Auf Bouillongelatine in Petri-Schalen bildet er halbkugelige Kolonien, welche anfangs weiß und später gelblich werden, oberflächlich bleiben und über die Fläche des Nährmediums hervortreten, das sich im Umfange der Kolonien langsam verflüssigt. Bei Stichkulturen entwickelt sich der *Bacillus* sehr schnell an der freien Oberfläche der Gelatine, die er ihrer ganzen Masse nach verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine bleibt klar, wird aber intensiv gelb. Zwischen der verflüssigten Gelatine und dem Boden des Gefäßes bildet sich ein gelber Niederschlag von Bakterien, die schnell absterben, da sie aërob sind. Die Bacillen, welche auf der Oberfläche der Flüssigkeit bleiben, bilden eine Haut, die sich sehr schnell erneuert, so oft man sie beim Schütteln des Tubus zerstört. In Strichkulturen auf Agar-Agar treten zunächst kleine, weißliche Kolonien auf, die bei weiterem Wachstum gelb werden und derartig zusammenfließen, daß sie die ganze Oberfläche schließlich mit einem gelben Belag überziehen, der mit der Zeit immer intensiver gelb wird. Die Kulturen auf Kartoffelscheiben sind sehr charakteristisch; die Kolonien bilden gelbe, unregelmäßige, klebrige Flecke, die mit zunehmendem Alter immer dunkler werden. Die Größenverhältnisse dieser Bakterien stimmen ebenfalls mit denen des parasitären *Bacillus* des Maulbeerbaums, die Länge überschreitet selten 1,5  $\mu$ . Die von mehreren Individuen hergestellten Ketten, welche man häufig in den Kulturen findet, können mehr als 5  $\mu$  Länge annehmen. Um die vollständige Identität des *Hanfbacillus* mit demjenigen des Maulbeerbaumes nachzuweisen, bedarf es noch weiterer Versuche.

Stift (Wien).

1) Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. II. Abt. 1897. No. 1.

**Prunet, A.**, Die verschiedenen Entwicklungsformen des Black-rot vom Herbst bis zum Frühling. (Compt. rend. d. l'Acad. d. sciences. 1897. I. Sem. No. 5. p. 250 ff.)

Die als „Black rot“ bezeichnete Rebenkrankheit wird bekanntlich durch einen zu den Ascomyceten gehörenden Pilz, *Carlia Bidwellii* (Ellis) P. Magnus oder *Guignardia Bidwellii* (Ellis) Viala et Ravaz, verursacht. In der guten Jahreszeit bringt der Pilz Pykniden, Spermogonien und Konidienträger hervor. Im Herbst entstehen auf allen befallenen Organen Sklerotien in großer Zahl, welche Veranlassung zur Bildung von Perithezien oder von Konidienträgern werden können. Dieselben können auch Pykniden und Spermogonien liefern, wie Verf. früher gezeigt hat<sup>1)</sup>. Derselbe hat ferner nachgewiesen, daß die Sklerotien die Dauerform dieses Parasiten im Winter darstellen und daß die Umwandlung der Sklerotien in sporentragende Bildungen, insbesondere in Perithezien, nicht ausschließlich, wie bisher angenommen, von Mai bis Juli stattfindet, sondern der Vegetationsperiode der Reben bedeutend vorausgehen kann, wenn die Witterung feucht und warm ist.

Moritz (Berlin).

**Viala, P.**, Die Entwicklung des Weißrostes der Reben (*Charinia diplodiella*). (Compt. rend. d. l'Acad. d. sciences. 1897. I. Sem. No. 2. p. 105 f.)

Bisher kannte man von den Fortpflanzungsformen des genannten Pilzes nur die Pykniden. 1893 hatten der Verf. und Ravaz im Laboratorium auch die Ascosporen erhalten. Verf. ist es nun gelungen, an aus Ungarn im August 1896 erhaltenen Zweigen von *Vitis rupestris* und *V. riparia*, außer den Pykniden, auch die Spermogonien, die Konidienträger und die Perithezien zu beobachten und durch den Versuch ihre Zugehörigkeit zu dem erwähnten Pilze nachzuweisen.

Moritz (Berlin).

**Perraud, Jos.**, Die Entwicklung des Weiß-Rostes (*Charinia diplodiella*). (La vigne américaine. 1897. No. 1. p. 30 ff. — Nach: Compt. rend. d. séances de la Société de Biologie, Séance du 5 décembre 1896.)

Diese Rebenkrankheit schädigt besonders die Trauben, die Beeren und die Traubensiele, selten die Triebe und niemals die Blätter, soweit die bisherigen Beobachtungen reichen. Verf. hat auch seinerseits die Bildung von Konidienträgern und Konidien beobachtet. Das Auftreten und die besonderen Eigenschaften der letzteren erklären das heftige und unerwartete Erscheinen des Weißrostes (Rot blanc) im Jahre 1896 in einigen Weinbergen im Beaujolais.

Moritz (Berlin).

**Selby, A. D.**, Investigation of plant diseases in forcing house and garden. (Bulletin No. 73 of the Ohio Agricultural Experiment Station. Dec. 1896. p. 221—246. 4 plates and 5 figures.)

1) Compt. rend. 1896. 23. März.



Dieser Bericht enthält kurze Angaben über: 1) Krankheiten des Salates; 2) durch Nematoden hervorgerufene Krankheiten; 3) Mehltaupilze, Bespritzung mit Fungiciden unter Glas; 4) Krankheiten der Cucurbitaceen; 5) Krankheiten der Tomaten.

Fünf Krankheiten werden für den Salat angegeben: *Botrytis vulgaris* Fr. kommt sehr häufig in Gewächshäusern vor, besonders auf Kopfsalat. Um den Pilz zu bekämpfen, sollte man das Haus nicht höher als 50° F in der Nacht halten. Ein neuer Pilz, *Marsonia perforans* E. und E., verursacht kleine Löcher von 1—2 mm Durchmesser. Der Pilz wird wie folgt beschrieben: Spots small, irregular in shape, 1—2 mm in diameter, pale, soon deciduous. Acervuli 100—120  $\mu$  in diameter or by confluence larger. Conidia abundant, clavate or wedge-shaped, hyaline, faintly uniseptate, 11—15: 2—3  $\mu$ , exceptionally reaching 20  $\mu$  long on *Lactuca sativa* in greenhouse at Troy, Ohio, March 1896.

*Bremia lactucae* Regel wurde häufig in Gewächshäusern in Columbus, Ohio, im Jahre 1891 gefunden, desgleichen eine *Septoria* häufig auf *Lactuca scariola*. Nematoden wurden häufig in den Wurzeln oder im Stamm in der Nähe der Basis beobachtet auf folgenden Pflanzen: *Begonia metallica*, *B. rubra*, *B. olvia*, Gurken, Violetten, Abutilon, Passiflora, Aepfeln und anderen Pflanzen.

Die *Erysiphe cichoracearum* auf Cinerarien kann man leicht vertilgen mit Schwefelkalium (K<sub>2</sub>S), 1 Unze zu 3 Gallonen Wasser, oder mit Blausteinlösung, 1 Unze zu 3 Gallonen Wasser. Drei oder vier Bespritzungen genügen. *Septoria dianthi* und *Heterosporium echinulatum* wurden ganz erfolgreich mit Bordeauxmischung, 4 Pfd. Blaustein, 4 Pfd. Kalk auf 50 Gallonen Wasser behandelt, doch wurde auch mit Erfolg Blaustein, 1 Unze zu 8 Gallonen Wasser angewandt.

*Bacillus tracheiphilus* Erwin F. Smith<sup>1)</sup> wird ganz kurz beschrieben. *Plasmopara cubensis* (B. und C.) Humph. kommt im Gewächshäusern häufig vor, aber auch im Garten. *Cladosporium cucumerinum* auf der Frucht der Gurke war so häufig in Mohoning Co., Ohio, daß die Gurken nicht gebraucht werden konnten. Eine neue Krankheit, verursacht durch *Alternaria*, vielleicht *A. brassicae* (Berk.) f. *nigrescens* Pegl., wird für *Cucumis melo* angegeben.

Die häufigste Krankheit auf Tomaten ist *Cladosporium fulvum* Cooke, doch ist auch eine andere Krankheit zum erstenmal beobachtet worden, die durch *Septoria Lycopersici* Speg. hervorgerufen wird. *Alternaria Solani* E. und M. ist schon seit Jahren bekannt. *Gloeosporium phomoides* Sacc. wurde auch in einer Varietät beobachtet. Die Bacteriosis der Tomaten ist vielleicht identisch mit Erwin F. Smith's *Bacillus solanacearum*, doch hat man dafür noch keinen Beweis.

Pammel (Ames, Iowa).

1) Erwin F. Smith, Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. Bd. II. 1895. p. 364.

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Beck und Schultz**, Ueber die Einwirkung sogen. monochromatischen Lichtes auf die Bakterienentwicklung. (Zeitschr. für Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXIII. 1897. p. 490.)

Die Verf. untersuchten die Einwirkung monochromatischen, unter Anwendung der Landolt'schen Farbfilter erzeugten Lichtes auf verschiedene, vornehmlich farbstoffbildende Bakterienarten, welche sie gleichzeitig auch dem Sonnenlichte und diffusen Tageslichte aussetzten, sowie vor Licht geschützt aufbewahrten. Dabei stellte es sich heraus, daß das einfarbige Licht nicht entwicklungshemmend oder keimtötend wirkte, dagegen die Farbstoffproduktion zuweilen beeinflusste. Diffuses Tageslicht begünstigte die Farbstoffbildung, während dieselbe bei einigen längere Zeit dunkel gehaltenen Kulturen eine Schädigung erfahren hatte. Direktes Sonnenlicht beeinträchtigte die Farbstoffbildung und das Bakterienwachstum.

Röntgenstrahlen blieben auf das Wachstum und Farbstoffbildungsvermögen der untersuchten Mikroorganismen ohne Einfluß.

Vogel (Hamburg).

**Bokorny, Th.**, Versuche über das Verhalten der Spalt- und Hefepilze gegen Fluorverbindungen. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1897. 1. April.)

Die Fluorverbindungen finden in der Brauerei und Brennerei häufig Anwendung, gewissermaßen als Antiseptika, um Bakterien und auch fremde Heferassen fernzuhalten.

Versuche mit Fäulnisbakterien und Fluorverbindungen führten den Verf. zu dem Resultate, daß die Fäulnis durch Kalium-, Natrium- und Ammoniumfluorid weniger leicht unterdrückt wird als durch Eisen und Magnesiumfluorid, was sich vielleicht so erklären läßt, daß letztere leichter spaltbar sind als erstere, unter Bildung der sehr stark giftigen freien Fluorwasserstoffsäure. Für diese Erklärung spricht auch die Beobachtung Effront's, daß Wärme und saure Reaktion der Nährflüssigkeit die Giftwirkung der Fluoride steigert; beide Umstände wirken ja auf eine Befreiung der Fluorwasserstoffsäure hin.

Preßhefe wächst in einer mit 0,02 Proz. KFl versetzten Peptonlösung sehr gut, während gleichzeitig zugesetzte Fäulnisbakterien sich wenig entwickeln. Fluoralkalien begünstigen überhaupt die Sproßhefe. Vielleicht vermag letztere jene Salze nicht zu spalten, während Bakterien diese Eigenschaft besitzen.

**Gouirand, G., und Bergeron, G.**, Versuche über die Behandlung der Anthraknose (*Sphaceloma ampelinum* de Bary) mit Lösungen von Kupfersulfat, Eisenvitriol und Schwefelsäure. (Rev. de viticulture. Tom. VII. 1897. No. 159. p. 5.)

Die Verf. besprechen in dem ersten Abschnitt ihrer Abhandlung die Erscheinungen, welche die erwähnte Krankheit an den ausgereiften Trieben der Reben hervorruft, sowie auch die Entwicklung der Sklerotien und die Sporenbildung bei denselben. Einige Abbildungen veranschaulichen die äußeren Krankheitserscheinungen an den befallenen Trieben, sowie die Veränderungen, welche der Pilz im Innern der Gewebe verursacht.

Die Sporenbildung findet bei einer Temperatur von 25° C sehr schnell statt. Die frei gewordenen Sporen keimen in Wasser oder in einer sehr schwach-sauren Flüssigkeit nach einiger Zeit, indem sie ein kropfiges, unregelmäßiges Mycel erzeugen. Es sind meist die Zellen an der Oberfläche des Sklerotiums, aus welchen die Fruchtträger hervorgehen, indessen können auch die inneren Zellen die letzteren liefern, wenn sie durch Zerreißen der Sklerotien ans Tageslicht gebracht werden.

Im zweiten Abschnitt der Arbeit werden die Mittel zur Bekämpfung der Anthraknose besprochen. Nur eine vorbeugende Behandlung scheint Erfolg zu haben. Bei den Versuchen der Verf. gelangten Lösungen von Eisen- und Kupfervitriol, sowie verdünnte Schwefelsäure zur Anwendung. Letztere erwies sich am wirksamsten.

Im dritten Abschnitt werden die Schlußfolgerungen aus den Ergebnissen der Versuche erörtert. Es scheint, daß die Behandlung mit 10-proz. Schwefelsäure, welche den größten Erfolg gezeigt hat, zu jeder Jahreszeit ausgeführt werden kann. Indessen scheint ihre Wirkung im Frühjahr am sichersten und stärksten einzutreten. Bei der Verwendung von Eisenvitriol erscheint es zweckmäßig, demselben eine größere Menge Schwefelsäure hinzuzufügen. Moritz (Berlin).

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Aderhold, E., Ueber die Bakterien in ihren Beziehungen zur Gärtnerei. 8°. 15 p. Breslau 1897.

Walker, Louis Pasteur und seine Forschungen. (Mitt. d. naturf. Gesellsch. in Bern aus dem Jahre 1896. p. XI. Bern 1897.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

Beauregard, H. et Guichard, Action des rayons X sur certains caractères biologiques des microbes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 27. p. 803—804.)

Boulanger-Dausse, Action du guaiacol sur la germination des spores de l'*Aspergillus fumigatus*. (Journ. de pharm. et de méd. 1897. No. 7.)

Bresadola, G., Di una nuova specie di Uredinea. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1897. No. 2. p. 74—75.)

Camus, L. et Gley, E., Persistance d'activité de la présure à des températures basses ou élevées. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 4. p. 256—259.)

Casagrandi, O., Sulla morfologia dei blastomiceti. (Naturalista sicil. 1897. No. 1/3. p. 1—24.)

- Cooke, M. C.**, A parasitic agaric. (Gardener's chronicle. Vol. XXI. 1897. No. 540. p. 284.)
- Erfont, J.**, Sur le dosage des matières fermentescibles dans les céréales. (Journ. de la distillerie franç. 1897. No. 679, 681. p. 263—266, 287—289.)
- Emmerling, O.**, Sur la fermentation alcoolique provoquée par les moisissures. (Journ. de pharm. de Liège. 1897. No. 6.)
- Fischer, E.**, Beiträge zur Kenntnis der schweizerischen Rostpilze. (Bullet. de l'Herbier Boissier. 1897. No. 5. p. 393—397.)
- Klebahn, H.**, Vorläufiger Bericht über Kulturversuche mit heteroeischen Rostpilzen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. Heft 3. p. 129—130.)
- Kulisch, P.**, Das Umgären der Hefe. (Alkohol. 1897. No. 21. p. 322—323.)
- Leisewitz, W.**, Ein Beitrag zur Biologie der Holzwespen, *Xiphydria dromedarius* Fabr., an Ulme. (Forstl.-naturwissenschaftl. Ztschr. 1897. Heft 5. p. 207—224.)
- Lesage, P.**, Action de l'alcool sur la germination des spores de champignons. (Annal. d. scienc. natur. Botan. T. III. No. 2. p. 151—159.)
- Lindner, P.**, Das Vorkommen von Amöben im Gärungsbetriebe. (Ztschr. f. Spiritus-industrie. 1897. No. 26. p. 215.)
- Renault, B.**, Les bactériacées des Bogheads. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 23. p. 1315—1318.)
- Schostakowitsch, W.**, *Mucor agglomeratus* n. sp. Eine neue sibirische Mucorart. (Ber. d. dtsh. botan. Gesellsch. Bd. XV. 1897. Heft 4. p. 226—228.)
- Tatum, E. J.**, Wiltshire uredineae. (Journ. of botany. Aug. 1897. p. 295—297.)
- Thomas, F.**, Positive Heliotaxis bei den Larven einer Pflanzenmilbe (*Bryobia ribis* Thomas). (Sitzber. d. Gesellsch. naturforsch. Freunde zu Berlin. 1897. No. 4. p. 39—45.)
- , Mimicry bei Eichenblatt-Gallen. (Ibid. p. 45—47.)
- Vuillemin, P.**, Association et dissociation parasitaires chez les Agarics. (Mycose et myco-bactériose.) (Bullet. de la soc. mycol. de France. 1897. p. 46.)

### Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

#### Luft und Wasser.

- Catterina, G.**, Contribuzione allo studio sull' importanza dei protozoi nella purificazione delle acque. (Atti d. soc. veneto-trentina di scienze natur. Ser. 2. Vol. III. 1897. Fasc. 1. p. 16.)
- Miyoshi, M.**, Ueber das massenhafte Vorkommen von Eisenbakterien in den Thermen von Ikao. (Journ. of the College of science, Imper. University, Tokyo 1897. Vol. X. Pt. II. p. 139—142.)
- , Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. (Ibid. p. 143—173.)

### Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Beauregard, H.**, Etude bactériologique de l'ambre gris. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 4. p. 254—256.)

#### Fleisch.

- Brieger u. Kempner, W.**, Beitrag zur Lehre von der Fleischvergiftung. (Dtsche med. Wchschr. 1897. No. 33. p. 521—522.)
- Preußen. Reg.-Bez. Münster.** Polizei-Verordnung, betr. die Untersuchung des Schweinefleisches auf Finnen. Vom 7. Mai 1897. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1897. No. 36. p. 726.)
- Sachsen-Koburg-Gotha. Herzogtum Gotha.** Verordnung, die Untersuchung geschlachteter Schweine, einzelner Schweinefleishteile und von Fabrikaten aus Schweinefleisch auf Trichinen und Finnen betr. Vom 27. Mai 1897. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1897. No. 34. p. 691—693.)

#### Milch, Molkerei.

- Mills, A.**, Recherches sur la stérilisation du lait, détermination de la température optimale au point de vue chimique qu'au point de vue bactériologique. (Clinique. 8. avril 1897.)

## Bier, Brauerei.

**Lankisch**, Zur Krebsplage. (Wechschr. f. Brauerei. 1897. No. 28. p. 353.)

## Wein, Weinbereitung.

- Bitterwerden** der Weine und eine neue Methode, es zu heilen. (Weinlaube. 1897. No. 25. p. 289—290.)
- Delle, E.**, Les vins fleuris. (Moniteur vinicole. 1897. No. 51. p. 201.)
- Desmoulin, A. M.**, Les vins de mouts stérilisés. (Moniteur vinicole. 1897. No. 48. p. 189—190.)
- , La vinification par les levures cultivées. (Ibid. No. 49. p. 194.)
- , La casse des vins. (Ibid. No. 51. p. 202.)
- Laborde, J.**, Concours de Pasteurisateurs à Bordeaux 1896/97. (Rev. de viticulture. 1897. No. 178, 179. p. 549—553, 587—593.)
- , Sur l'absorption d'oxygène dans la casse du vin. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 4. p. 248—250.)
- Lagatu, H.**, Sur la casse des vins; interprétation nouvelle basée sur le rôle du fer. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 25. p. 1461—1462.)
- Mathieu, L.**, Présence des acariens dans les vins. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 8. p. 400—401.)
- Rosenstiehl**, Procédé de vinification par la stérilisation préalable des moûts. (Rev. de viticulture. 1897. No. 183. p. 710—713.)
- Trouessart, E. L.**, Sur l'acarien des vins de Grenache (*Carpoglyphus passularum* Rohin). (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 6. p. 363—366.)

## Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Faulen**, das, der Kartoffeln. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1897. Heft 13. p. 396—400.)
- Fauna** auf dem Gerste- und Malzboden. (Wechschr. f. Brauerei. 1897. No. 26. p. 323—325.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

## Harmlose Bakterien und Parasiten.

- Janse, J. M.**, Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. (Annal. du jardin botan. de Buitenzorg. Vol. XIV. 1. partie. 1896. p. 53—201.)
- Nobbe, F.**, Some recent investigations concerning soil inoculation with pure cultures of tubercle bacilli for culture of legumes. (U. S. Departm. of agricult. Exper. stat. record. Vol. VIII. No. 6. Washington 1897.)
- Nobbe, F. and Hiltner, T.**, The adaptability of tubercle bacteria of unlike origin to different genera of Leguminosae. (U. S. Departm. of agricult. Exper. stat. record. Vol. VIII. No. 6. Washington 1897.)

## Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Bekämpfung**, zur, des Heuwurmes und Springwurmwicklers. (Allg. Wein-Ztg. 1897. No. 25. p. 253—255.)
- Bekämpfung**, zur, der Rebenschädlinge. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1897. No. 14, 15. p. 216—221, 235—239.)
- Beckwith, M. H.**, Blight affecting the body of pear and apple trees. (Delaware stat. rep. 1895. p. 158, 159.)
- Berlese, A. N.**, Nuovi studi sulla malattia del frumento sviluppatasi nel 1895 in Sardegna. (Bollett. di notizie agrar. 1897. No. 12. p. 430—437.)
- Bolley, H. L.**, New work upon the smuts of wheat, oats and barley, with a resume of treatment experiments for the last three years. (Governm. agricult. exper. stat. for North Dakota. Bullet. No. 27. 1897. p. 109—162.)
- Briem, H.**, Les moyens les plus usités pour combattre les parasites animaux ou végétaux de la betterave sucrière. (Agricult. rationnelle. 1897. No. 8.)
- Britton, W. E.**, Blight, burn or scald of tomato plants. (20. annual rep. of the Connecticut agricult. exper. stat. for 1896. Part. 3. p. 232—234.)
- Busse, W.**, Bakteriologische Studien über die „Gummosis“ der Zuckerrüben. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 2, 3. p. 65—77, 149—155.)

- Chester, F. D.**, Experiments in spraying. (U. S. Department of agricult. Experim. stat. record. Vol. VIII. No. 6. Washington 1897.)
- , A leaf blight of the tomato. (Ibid.)
- Clinton, W. P.**, Brom-corn smut. (Univers. of Illinois, Agricult. exper. stat. Bullet. No. 47. 1897. p. 373—407.)
- Cuboni, G.**, Risultati delle esperienze per combattere la peronospora eseguite nell' anno 1896. (Bollett. di notizie agrar. 1897. No. 12. p. 401—411.)
- Degrully, L.**, Attaque violente de black-rot dans le sud-ouest. (Vigne franç. 1897. No. 10. p. 148—149.)
- Eriksson, J.**, Einige Bemerkungen über das Mycelium des Hexenbesenrostpilzes der Berberitze. (Ber. d. dtsh. bot. Gesellsch. Bd. XV. 1897. Heft 4. p. 228—231.)
- , Ueber den Berberitzenstrauch als Träger und Verbreiter von Getreiderost. (Die landwirtschaftl. Versuchs-Stationen. Bd. XLIX. 1897. Heft 1/2. p. 83—95.)
- Falque, A. et Degrully, L.**, Le folletage, la gommose et le court-noué dans les vignobles méridionaux. (Progrès agricole du midi. — Vigne franç. 1897. No. 11. p. 166—168.)
- Forbes, S. A.**, The San José scale in Illinois. (University of Illinois, agricult. exper. stat. Bullet. 1897. No. 48. p. 413—428.)
- Garman, H.**, Experiments for checking apple rot and codling moth in 1895. (U. S. Department of agricult. Exper. stat. record. Vol. VIII. No. 5. Washington 1897.)
- Guiraud, D.**, Emploi du lysol contre les maladies de la vigne. (Moniteur vinicole. 1897. No. 54. p. 214.)
- Hennings, P.**, Eine schädliche Pilzkrankheit des Canaigre, *Ovularia* (Cke.) Oud. var. *canaagricola* P. Henn. (Notizbl. d. k. bot. Gart. u. Mus. Berlin 1897. p. 238.)
- Kehrig, H.**, Destruction de la cochyliis. (Vigne franç. 1897. No. 10. p. 149—150.)
- Lang, G.**, Das Auftreten der *Lyda hypotrophica* in den bayerischen Staatswäldungen des Fichtelgebirges während der Jahre 1895 und 1896. (Forstl.-naturwissensch. Ztschr. 1897. Heft 6. p. 233—240.)
- Lavergne, G.**, Nouvelle bouillie contre le mildiou et le black-rot. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. No. 26. p. 1542—1543.)
- , Du réensemencement du black-rot. (Vigne franç. 1897. No. 10. p. 147—148.)
- Lavergne, M.**, Le black-rot d'après les peintures originales. 8°. Paris (Masset) 1897. 3 fr.
- Mc Alpine, D. and Lowrie, W.**, Rust in wheat conference. (U. S. Departm. of Agricult. Exper. stat. record. Vol. VIII. No. 6. Washington 1897.)
- Magnus, P.**, Ein auf Berberis auftretendes *Aecidium* von der Magellanstraße. (Ber. d. dtsh. bot. Gesellsch. Bd. XV. 1897. Heft 4. p. 270—276.)
- Müller-Thurgau, H.**, Concerning the activity of fungus-diseased leaves. (U. S. Departm. of agricult. Exper. stat. record. Vol. VIII. No. 6. Washington 1897.)
- Noack, F.**, Die Bekämpfung der schädlichen Getreidefliegen auf Grund ihrer Lebensweise. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 3. p. 183—185.)
- Olson, M. E.**, *AcrospERM urceolatum*, a new discomycetous parasite of *Selaginella rupestris*. (Botan. Gazette. 1897. No. 5. p. 367—371.)
- Oudemans, C. A. J. A.**, Sur une maladie du Perce-neige; *Galanthus nivalis*. (Overgedr. uit Versl. v. de gewone vergad. d. wis- en natuurk. afdeel. v. 21. April 1897. p. 3—10.)
- , Sur une maladie des pivoines (*Paeonia*). (Ibid. p. 10—12.)
- Perret, M.**, La bouillie sucrée contre le mildew; poudre cuprique sucrée. (Vigne franç. 1897. No. 10. p. 147.)
- Prillieux et Delacroix**, Maladie des branches des mûriers de la Turquie d'Europe. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 21. p. 1168—1170.)
- Rose, E.**, Sur la propagation du *Pseudocommis vitis* Debray. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXIV. 1897. No. 25. p. 1470—1472.)
- Schröder, Chr.**, Blattwespen-Gallen. (Natur und Haus. 1897. Heft 7—12.)
- Selby, A. G.**, Certain troublesome diseases of tomatoes and cucurbits. (Reprint. from the Journ. of the Columbus horticult. soc. 1897. No. 4.) 5. p.
- Selby, A. D.**, Vegetable pathology. (Reprint. from the Journ. of the Columbus horticult. soc. 1897.) 8°. 5 p.
- , Some diseases of orchard and garden fruits. (Ohio agricult. exper. stat. Bullet. 1897. No. 79. p. 79—141.)
- Shirai, M.**, Notes on the fungus diseases of *Setaria italica*. (Botan. magaz. Tokyo. 1897. No. 122. p. 25—29.)



- Spath**, Zur Bekämpfung der Rebenschädlinge. (Weinbau u. Weinhandel, 1897. No. 24. p. 208.)
- Sturgis, W. C.**, Fungus diseases and their treatment. (U. S. Department of Agricult. Exper. stat. record. Vol. VIII. No. 5. Washington 1897.)
- —, Experiments on the prevention of potato-scab. (20. annual rep. of the Connecticut agric. exper. stat. for 1896. Part. 3. p. 246—262.)
- —, On a leaf-blight of melons. (Ibid. p. 267—268.)
- —, On the probable winter-condition of the fungus of peach-scab (*Cladosporium carpophilum*). (Ibid. p. 269—271.)
- —, On a destructive fungous disease of tobacco in South Carolina. (Ibid. p. 273—278.)
- —, Miscellaneous notes on fungous and insect pests. (Ibid. p. 281—284.)
- v. Tubenlf, C.**, Neuere Beobachtungen über die Cecidomyien-Galle der Lärchenkurztriebe. (Forstl.-naturwissensch. Ztschr. 1897. Heft 5. p. 224—229.)
- Wagner, F.**, Ueber das Auftreten der Dürffleckenkrankheit der Kartoffeln im Jahre 1896. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 3. p. 130—131.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Doty, A. H.**, Desinfection by steam. (Amer. Journ. of the med. scienc. Aug. 1897 p. 190—206.)

### Inhalt.

#### Originalmitteilungen.

- Behrens, J.**, Untersuchungen über den Wurzelschimmel der Reben. (Orig.), p. 584.
- Brisi, Ugo**, Una malattia batterica dell' *Apium graveolens* L. (Orig.), p. 575.
- Casagrandi, O.**, Ueber die Morphologie der Blastomyceten. (Orig.), p. 563.
- v. Freudenreich, Ed. und Jensen, Orla**, Ueber den Einfluß des Naturlabes auf die Reifung des Emmenthalerkäses. (Orig.), p. 545.
- Peglion, V.**, Marciume radicale delle piante di Tabacco causato dalla *Thielavia basicola* Zopf. (Orig.), p. 580.
- Sewerin, S. A.**, Zur Frage über die Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien. (Orig.) [Schluß], p. 554.

#### Referate.

- Berlese, Amedeo**, Verhalten der Saccharomyceten an den Weinstöcken. I.—III. Abhandl., p. 592.
- Dehérain, P. P.**, Ueber die Reduktion der Nitrate in der Ackererde, p. 592.
- Fischer, A.**, Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien, p. 590.
- Peglion, Victor**, Eine neue Krankheit des Hanfes (*Bacteriosis* des Stengels), p. 599.

- Perraud, Jos.**, Die Entwicklung des Weißrostes (*Charrinia diplodiella*), p. 601.
- Prunet, A.**, Die verschiedenen Entwicklungsformen des Black-rot vom Herbst bis zum Frühling, p. 601.
- Rodewitsch, W. W.**, Ein neuer pigmentbildender Saprophyt, p. 591.
- Selby, A. D.**, Investigation of plant diseases in forcing house and garden, p. 601.
- Thaxter, Roland**, Contribution towards a monograph of the Laboulbeniaceae, p. 597.
- Viala, P.**, Die Entwicklung des Weißrostes der Reben (*Charrinia diplodiella*), p. 601.

#### Entwicklungshemmung u. Vernichtung der Bakterien etc.

- Beck und Schultz**, Ueber die Einwirkung sogen. monochromatischen Lichtes auf die Bakterienentwicklung, p. 603.
- Bokorny, Th.**, Versuche über das Verhalten der Spalt- und Hefepilze gegen Fluorverbindungen, p. 603.
- Gouirand, G., und Bergeron, G.**, Versuche über die Behandlung der Anthraknose (*Sphaceloma ampelinum* de Bary) mit Lösungen von Kupfersulfat, Eisenvitriol und Schwefelsäure, p. 603.

#### Neue Litteratur, p. 604.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Privatdozent Dr. Lindau in Berlin, Dr. Lindner  
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Dr. Erwin F. Smith in  
Washington, D. C., U. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer  
in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 15. Dezember 1897.**

**No. 23/24.**

---

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

---

## **Original - Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Aromabildende Bakterien im Emmenthaler Käse.**

Von

**Dr. R. Burri,**

Dozenten für landwirtschaftl. Bakteriologie am eidg. Polytechnikum und Assistent an der  
agrikulturchemischen Station in Zürich.

Bei seinen über die Pilzflora von zahlreichen Käsearten ausgeführten Untersuchungen fand Henrici<sup>1)</sup> 2 Bacillusarten, 3 Bakterienarten, 7 Mikrokokken und 3 Sarcinen, welche in Kulturen käseähnlichen Geruch erzeugten.

Weigmann<sup>2)</sup> beschreibt einen verflüssigenden Coccus, der sich

---

1) Basler Dissert., 1894. — Nach Referat im Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. Bd. I. p. 41.

2) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. Bd. I. p. 154.

in einer auf 55° erhitzten Milch fand. Die Kultur desselben in Milch roch aromatisch käseartig, und eine pasteurisierte, nachher mit diesem Coccus geimpfte Milch lieferte beim Verkäsen ein Produkt, das an Schweizerkäse erinnerte, trotzdem die Behandlung diejenige für Goudakäse gewesen war. Aus unvollständig sterilisierter Milch isolierte Weigmann ferner ein „breites“ Stäbchen, das in Milchkulturen Geruch nach Wilstermarschkäse erzeugte. Mit Zusatz solcher Milchkulturen wurde einmal ein Käse nach Goudaart, ein anderes Mal ein holsteinischer Magerkäse gemacht; in beiden Fällen resultierte ein Produkt, das mehr die Eigenschaften des Wilstermarschkäses als diejenigen der beiden genannten Käsearten zeigte, „gewiß ein Beweis für die wichtige Rolle, welche die Anwesenheit der eingeimpften Bakterienart gespielt hatte“. Derselbe Forscher hat aus holländischen Proben von „langer Wey“ Aroma produzierende Bakterien gezüchtet, deren Wirksamkeit vielleicht auf Symbiose beruht. Auf symbiotischer Bakterienthätigkeit scheint nach W. auch der Geruch nach überreifem Limburger Käse zurückzuführen sein, der sich mitunter in gekochten, aber nicht keimfreien Milchproben entwickelt.

Auch v. Freudenreich<sup>1)</sup> beobachtete in gewissen, mit Käseemulsionen geimpften Milchflaschen das Auftreten eines starken Limburger Geruchs, der mit der Zeit in eigentlichen Fäulnisgeruch überging. Als Erreger desselben konnte ein *Bacillus* isoliert werden, der im sporulierenden Stadium *Clostridium*form annahm und als *Clostridium foetidum lactis* bezeichnet wurde.

Alle diese Angaben verdanken ihren Ursprung mehr oder weniger zufälligen Befunden. Ich möchte diesen, von anderer Seite gemachten Beobachtungen eine weitere hinzufügen, die sich auf einen aus Emmenthaler Käse isolierten, Käsearoma produzierenden *Bacillus* bezieht, welcher, wie es mir scheint, gerade wegen der Regelmäßigkeit seines Vorkommens in genannter Käseart besondere Beachtung verdient.

Gelegentlich einiger Versuche, welche ich anstellte, um aus Emmenthaler Käse typische Buttersäurebakterien zu isolieren, stieß ich auf eine Bakterie, welche nach Verimpfung in sterilisierte Milch in derselben nach kurzer Zeit Geruchstoffe erzeugte, welche vollständig denjenigen von gutem, normalem Emmenthaler Käse entsprachen. Wurden diese Milchkulturen längere Zeit, 2—4 Wochen, stehen gelassen, so hatte der Geruch seine Reinheit eingebüßt. Er erinnerte zwar noch immer an Käse, war aber durch gleichzeitig auftretenden Geruch nach flüchtigen Fettsäuren unangenehm durchdringend geworden. Da mir ein vorläufiger Vergleich der oben zitierten Angaben gegen die Identität meiner Aromabakterie mit einer der schon beschriebenen Arten zu sprechen schien, so verfolgte ich die Sache weiter und wandte mich zunächst der Frage zu, ob das Vorkommen dieser Bakterie in der betreffenden Käseprobe nur ein zufälliges gewesen sei, oder ob Käse überhaupt, speziell Hartkäse vom Typus des Emmenthaler, von Natur aus solche Aromabakterien regel-

1) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., II. Abt. Bd. I, p. 856.

mäßig beherbergen. Die Intensität und Reinheit des Geruchs, wie sie junge Milchkulturen meiner Bakterie zeigten, sodann die Tatsache, daß diese Bakterie aus einer Probe Emmenthaler stammte, drängten zu der Annahme eines ursächlichen Zusammenhangs zwischen der Thätigkeit dieser Bakterien und dem Geruch des reifen Emmenthaler Käses. War diese Annahme richtig, so mußte sie sich unter anderem dadurch bestätigen lassen, daß es möglich war, die betreffende Bakterienart in einem beliebigen Emmenthaler Käse aufzufinden und daraus zu isolieren. Meine Bemühungen nach dieser Richtung waren von Erfolg begleitet. Zwei andere Käseproben, aus verschiedenen Verkaufsmagazinen bezogen, enthielten eine Bakterienart, die sich unschwer mit der erstisolierten identifizieren ließ und in Milch denselben typischen Käsegeruch erzeugte. Zur Vervollständigung dieser Befunde nahm ich noch 3 weitere, aus verschiedenen Quellen stammende, Käseproben in Untersuchung und es gelang, aus jeder derselben einen aromabildenden Spaltpilz zu züchten, der zu derselben Art gehörte. In 6 Käseproben verschiedenen Ursprungs hatte also diese Art niemals gefehlt, so daß wohl die Voraussetzung gemacht werden darf, diese Aromabakterie lasse sich in jedem beliebigen, nach Emmenthaler Art hergestellten und normal gereiften Käse durch geeignetes Isolierungsverfahren finden.

Der fragliche Spaltpilz gehört zur Gruppe der Heubacillen, deren Vertreter sehr schwer auseinanderzuhalten sind, einmal weil dieselben morphologisch und kulturell auch in den Extremen große Ähnlichkeit unter sich zeigen, sodann weil tatsächlich verschiedene Eigenschaften innerhalb weiter Grenzen schwanken und man daher die an einer bestimmten Kultur beobachteten Erscheinungen nur unter gewissem Vorbehalte als für die betreffende Art charakteristisch hinstellen darf. Denn wie wir auf leichte Weise, manchmal ohne es zu wollen, Laboratoriumsvarietäten heranzüchten können, so ist auch unter natürlichen Verhältnissen die Möglichkeit nicht nur vorhanden, sondern oft unvermeidlich, daß zwei Spaltpilze desselben Ursprungs unter dem Einflusse gänzlich verschiedener Lebensbedingungen geraten und nach Durchlauf von vielleicht wenigen Generationen bei der bakteriologischen Untersuchung den Eindruck zweier verschiedener Arten hervorrufen. Diesen Standpunkt habe ich bei der Abfassung der Charakteristik meines *Aromabacillus* berücksichtigen müssen und ich will gleich vorausschicken, daß von den 6 isolierten Stämmen nicht 2 sich in ihren Eigenschaften so genau gedeckt haben, wie es zum Zwecke des Identitätsbeweises wohl von gewissen Seiten verlangt würde.

Die morphologischen Verhältnisse, soweit es sich um junge Kulturen handelt, erwiesen sich von großer Konstanz. Nicht nur schwankte die Dicke bei sämtlichen 6 Stämmen nicht über 1,3 bis 1,5  $\mu$  hinaus, sondern auch die auf verschiedenen Nährböden gezüchteten Nachkommen der Originalkulturen zeigten dasselbe Maß. Die Länge betrug meist 3—6  $\mu$ . Selten waren längere Stäbchen, wohl aber kamen, namentlich in älteren Kulturen, mehrgliedrige Ketten vor. Unter gewissen Bedingungen, sicher auf Kartoffeln, tritt eine auffallende Körnelung des Plasmas ein, so daß im Stadium der

höchsten Entwicklung derselben das Stäbchen eine Reihe hinter- und z. T. auch nebeneinander liegender, kreisrund begrenzter, stark lichtbrechender Partien zeigt.

Bewegung von meist träger, selten lebhafter Art, wurde unter gewissen Umständen bei allen 6 Stämmen beobachtet. Doch gehört dieses Merkmal zu den unsichersten. Ueppig wachsende, junge Agarkulturen z. B. ließen oft kein einziges bewegliches Stäbchen erkennen.

Gelatineplattenkulturen. Die Plattenbilder, die mir die 6 Kulturen verschiedenen Ursprungs lieferten, waren so mannigfaltig, daß als gemeinsames Merkmal nur die verhältnismäßig schnelle, flach schalenförmige Verflüssigung unter Neigung zur Hautbildung übrig bleibt. Wie ich mich überzeugte, gingen die verschiedenen Wachstumstypen, welche die Oberflächenkolonien boten, Hand in Hand mit dem mehr oder weniger großen Bewegungsvermögen der einzelnen Kulturen. Zu den Wachstumstypen gehörten: 1) runde, gleichmäßig graue Verflüssigungsscheiben; 2) ebensolche Scheiben mit punktförmiger, dichter Bakterienansammlung im Centrum; 3) Scheiben mit radial gestellten, von der Peripherie auslaufenden Bakterienzügen; 4) Scheiben, bei denen eine breite, periphere Zone von einer Haut bedeckt war, während der centrale Teil davon frei blieb und sich als dunkle Scheibe von dem helleren, grauen Außenring abhob. Auf den Originalplatten ist mir der letztgenannte Typus am häufigsten begegnet. Die Kolonien in der Tiefe zeigten recht gleichmäßiges Verhalten; sie stellten bei schwacher Vergrößerung rundliche, undeutlich begrenzte, am Rande krause Fäden tragende Klümpchen dar, die bei Platten mit langsamer Verflüssigung zu flockigen Gebilden von 1—3 mm Durchmesser heranwachsen und in diesem Stadium an junge Schimmelkolonien erinnerten.

Gelatinestichkulturen. Die Verflüssigung beginnt schalenförmig, wird bald trichterförmig und breitet sich schnell bis zur Gefäßwand aus. Das cylinderförmige Fortschreiten nach unten geht aber nur langsam vor sich und bedarf ev. mehrerer Wochen, um den Grund des Gläschens zu erreichen.

Agarplattenkulturen. Nicht charakteristische, bei 30° kreisrunde, glanzlose Flecken, mitunter Fältchenbildung. Kolonien der Tiefe bei schwacher Vergrößerung Fadenknäuel mit krausen Ausläufern.

Agarstichkulturen. Die Eigentümlichkeit des Bacillus, in der Tiefe der Nährböden schimmelähnliche Kolonien zu entwickeln, gelangt mitunter, aber nicht regelmäßig, im Stiche dadurch zum Ausdruck, daß sich das Bild des umgekehrten Tannenbäumchens zeigt. Diese Wachstumsform scheint jedoch eine Anpassung an Sauerstoffmangel in bestimmtem Grade vorauszusetzen. An der Oberfläche der Kultur bildet sich eine graue Ausbreitung, die bei Rassen, die mehr zur Hautbildung neigen, ein System von radialen Rippen tragen kann.

Kartoffelkulturen. Dieselben sind als charakteristisch anzusehen, weniger ihres makroskopischen Aussehens wegen, als auf Grund ihrer mikroskopischen Beschaffenheit. Bei 30° entwickelt sich der Bacillus außerordentlich schnell den Impfstichen entlang als wenig erhabener, keine Spur von Faltung zeigender, ausgesprochen

glanzloser Belag, der nach 24 Stunden schon eine Breite von 2 mm hat und nach einigen Tagen die ganze geimpfte Fläche überzieht und auch auf die Seitenflächen übergreift. Faltung habe ich auch an wochenalten Kulturen nie wahrnehmen können, wohl aber hatten dieselben mit der Zeit ein feucht-glänzendes Aussehen bekommen. Die mikroskopische Untersuchung von ganz jungen, etwa 1 Tag alten Kulturen (30° C) zeigt regelmäßig geformte Stäbchen von den oben angegebenen Dimensionen mit deutlich gekörntem Plasma. Nach 2 Tagen treten die Differenzierungen im Plasma als wie Fetttropfchen ausschende, kreisrunde Partien noch deutlicher hervor, und da jedes Stäbchen 2 bis mehrere derselben hintereinander enthält, so erzeugen Stäbchen und Stäbchenreihen bei oberflächlicher Betrachtung, namentlich bei schwacher Vergrößerung, den Eindruck von Kokkenreihen. In einem späteren Stadium, nach einigen Tagen, beginnen sich viele der Stäbchen zu krümmen, die ursprünglich vorhandene Bewegung hört auf, kurze Stäbchen biegen ihre Enden so gegeneinander, daß sie sich berühren, längere rollen sich zu einem Knäuel zusammen, der die ursprüngliche Form nicht mehr erkennen läßt, und so schreitet der Prozeß fort, bis der größte Teil der Stäbchen in diese wohl als Involutionsformen aufzufassenden Gebilde übergegangen ist. Der Anblick eines solchen Präparates ist ein eigenartiger und kann kaum mit dem Aussehen von Kartoffelkulturen anderer Arten verwechselt werden. Besonders auffallend sind isodiametrische Formen, die mehrere  $\mu$  im Durchmesser halten und scheinbar durch ein Konglomerat von wenigen großen Kokken gebildet werden. In sämtlichen meiner 6 Stämme habe ich die beschriebenen Erscheinungen übereinstimmend in mehr oder weniger ausgeprägter Weise beobachten können.

**Bouillonkulturen.** Bald nach der Impfung tritt starke Trübung ein, später Hautbildung an der Oberfläche, nachträglich Klärung der Bouillon und Anhäufung eines weißlichen Bodensatzes.

**Milchkulturen.** Zuerst erfolgt Gerinnung, und zwar bei 30° C gewöhnlich schon innerhalb 24 Stunden. Sodann wird das Kasein wieder aufgelöst, anscheinend vollständig. Das Serum, auf welchem das Fett schwimmt, nimmt dabei eine braungelbe Farbe an. Ein bis zwei Tage nach der Impfung zeigt die Milch einen deutlichen Geruch nach Emmenthaler Käse, welcher in den folgenden Tagen noch stärker wird. Reaktion der Milch deutlich alkalisch.

**Parakaseinkulturen.** Um die Einwirkung des Bacillus auf durch Lab ausgeschiedene Käsemasse zu prüfen, wurden kleine, frisch bereitete Käseproben möglichst von den Molken befreit und bei 120° C sterilisiert. Die rötliche, zähe Masse wurde mit Reinkulturen geimpft. Schon nach 20 Stunden war deutlicher Käsegeruch wahrzunehmen und nach einigen Tagen waren die Käschen in den Versuchsgefäßen vollständig verflüssigt, während das anscheinend unveränderte MilCHFett auf der Oberfläche schwamm.

**Temperatur.** Der Bacillus gedeiht wie alle Arten dieser Gruppe ebenso gut oder besser bei Bluttemperatur als bei Zimmer-

temperatur, aber auch bei letzterer ist das Wachstum ein äußerst lebhaftes zu nennen.

**Sauerstoff.** Trotzdem der *Bacillus* eine ausgesprochene Vorliebe für Sauerstoff zeigt, so gedeiht er doch auch ganz gut, wenn man ihm denselben vollständig entzieht. Kulturen in frisch ausgekochtem Milchsüßkaramell in hoher Schicht zeigten schönes Wachstum. Es ist dieses Verhalten bemerkenswert, da im Innern eines reifenden Käses die Lebensbedingungen wahrscheinlich einer nahezu vollkommenen Anaerobie entsprechen.

**Gasbildung.** In trauben- oder milchsüßkaramellhaltigen Nährböden konnte niemals Gasentwicklung beobachtet werden.

**Sporenbildung.** Der *Bacillus* bildet Sporen, die fast doppelt so lang als breit sind. Einige Beobachtungen schienen mir dafür zu sprechen, daß bei Sauerstoffabschluß die Sporenbildung unterbleibt. Uebrigens fanden auch bei Sauerstoffzutritt bei den einzelnen Stämmen in Bezug auf Sporenbildung gewisse Abweichungen statt, über deren Ursache ich mir bis jetzt kein klares Urteil bilden konnte.

Der fragliche Organismus ist also, abgesehen von den allgemeinen Eigenschaften, die ihm als Vertreter der Gruppe der Heubacillen zukommen, in Kürze gekennzeichnet: durch sein verhältnismäßig großes Breitenmaß, welches konstant nahezu  $1,5 \mu$  ist; sodann durch sein Wachstum auf Kartoffeln, auf welchen ein faltenloser Belag zustande kommt, der in nicht zu jungen Kulturen charakteristische, oft isodiametrische Wuchs-(Involutionen)-formen zeigt und endlich durch die Fähigkeit, in Milch und frischer Käsemasse unter gleichzeitiger Peptonisierung des Kaseins einen deutlichen Geruch nach Emmenthaler Käse zu erzeugen.

Wenn demnach dieser *Bacillus* mit denjenigen Eigenschaften ausgestattet ist, die man einem Käseereifungsorganismus auf Grund der Umwandlungen, welche die Käsemasse im Verlaufe der Reifung erleidet, zuschreiben müßte, und wenn man dabei erwägt, daß dieser Aromabacillus im Emmenthaler Käse regelmäßig gefunden wird, so liegt die Schlußfolgerung nahe, daß eben dieser Aromabacillus für das Zustandekommen der Reifung des Emmenthaler und vielleicht anderer Käsesorten notwendig ist. Es soll damit nicht gesagt sein, daß dieser *Bacillus* allein schon die Reifung bewirken kann, im Gegenteil, aus den zahlreichen Untersuchungen, welche v. Freudenreich in Bezug auf die Frage der Ursache der Käseereifung vornahm, scheint hervorzugehen, daß die Milchsäurebakterien am Reifungsprozeß wesentlichen Anteil nehmen und diese Wahrscheinlichkeit wird noch dadurch erhöht, daß v. Freudenreich in neuester Zeit für einige im Käse häufige Milchsäurebakterien kaseinlösende Eigenschaften nachweist. Bekanntlich hat dieser Forscher auf Grund seiner Versuche die verflüssigenden Stäbchen vom Typus der Heu- und Kartoffelbacillen als für das Zustandekommen des Reifungsprozesses unerheblich erklärt, weil diese Arten im Verhältnis zu den Milchsäurebakterien im Käse gar zu spärlich vorhanden waren und sich darin nicht zu vermehren schienen. Spätere Versuche unter

Verwendung verbesserter Methoden ließen ihn seine diesbezügliche Ansicht zu gunsten der verflüssigenden Arten ändern, namentlich die Thatsache, daß ein als No. 1 bezeichneter verflüssigender Bacillus sich als ein recht häufiger Bewohner des Emmenthaler Käses herausstellte. Die Angaben, die v. Freudenreich über seinen Bacillus No. 1 macht, lassen mich vermuten, daß mein Aromabacillus mit dem letzteren identisch ist, trotzdem v. Freudenreich nichts über die Entwicklung von charakteristischen Geruchstoffen erwähnt. Auch der von Weigmann aufgeführte „breite“ Bacillus, der Geschmack und Geruch von Wilstermarschkäse erzeugte, hat mit dem von mir beschriebenen Organismus vieles gemeinsam.

Anschließend an eine diesbezügliche, ähnliche Mitteilung v. Freudenreich's<sup>1)</sup> möge noch eine Beobachtung erwähnt werden, welche die von gewisser Seite (z. B. von Henrici) ausgesprochene Ansicht, es fänden sich im Käse keine obligat anaeroben Organismen, nicht bestätigt. Von 6 der untersuchten Käseproben fand ich in 4 ein nur bei vollständigem Sauerstoffabschluß gedeihendes Clostridium, das unter starker Gasbildung sehr energisch Milchzucker zu Buttersäure vergor. Bei gleichzeitiger Verimpfung mit meinem Aromabacillus war der Sauerstoffabschluß entbehrlich und die Gärwirkung trat mit derselben Heftigkeit auf.

28. Aug. 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Unorganized Ferments of Milk: a new Factor in the Ripening of Cheese.

[Contribution from University of Wisconsin Agricultural Experiment Station.]

By

S. M. Babcock and H. L. Russell

in

Madison, Wis.

Pending the publication of detailed experiments upon the ripening of cheese in the forthcoming annual report of the Wisconsin Agricultural Experiment Station, it has been deemed advisable to present briefly at this time some of the results that have been reached, and which, in our judgment, have a very important bearing on the theories of cheese ripening. At the present time it is generally accepted that the changes which occur during the curing of cheese made with rennet are due largely, if not entirely, to the direct or indirect action of micro-organisms that are present in the milk, and which are capable of development in the cheese. The most obvious of these

1) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. Bd. II. p. 318.



changes are those affecting the casein, which is converted from an insoluble substance into soluble products allied to the albumoses and peptones.

Recently many attempts have been made to isolate the specific bacteria capable of producing these changes, as may be seen from recent publications in this journal and elsewhere.

In working on this problem it is necessary to render milk sterile in order that the effect of specific organisms may be determined. The method universally employed for this purpose is sterilization by heat. This process has serious objections, however, in that the albumen is coagulated and the effect of rennet impaired by the action of the heat employed.

In order to avoid these difficulties, we have attempted to sterilize milk by the use of agents that would destroy the bacteria without affecting the action of the rennet or the character of the milk. The agents employed for this purpose were those that are used to differentiate between organized and unorganized ferments, i. e., ether, chloroform, benzol, etc.

### Digestion of Milk sterilized by chemical Means.

Our attempts to render milk sterile by the use of such agents apparently miscarried, even where large quantities of the disinfectant were used, inasmuch as such milks sooner or later underwent profound physical and chemical changes. After a lapse of several weeks the casein in all these milks coagulated and finally showed physical symptoms of disintegration. A chemical analysis of this milk showed that the insoluble casein was largely replaced by soluble proteids, such as the albumens, albumoses and peptones.

This phenomenon was first explained by assuming that the milk had not been rendered sterile, as cultures made in various culture media from the milk after the anaesthetic had been removed quite often showed bacterial growth. It was, however, noticed that this occurred without any appreciable change in the chemical reaction of the fluid, showing that the coagulation of the casein was not induced by acid formed by bacteria. It seemed probable that the coagulation and subsequent digestion in the milk after it had been freed from the anaesthetic might be due to the action of enzymes formed by various spore-bearing organisms, which in a latent condition might be able to resist the action of the chemical, but that actual development of these organisms occurred in milk when saturated with these chemical agents is inconsistent with the generally accepted idea that metabolism can take place under these conditions. It was necessary then to search for the origin of the supposed enzyme in the milk prior to the addition of the antiseptic.

Only two plausible sources could be considered. Either the milk itself, independent of any extraneous factor, possessed the enzymes in question, or they were formed as a result of the development of living organisms that gained access to the milk, and which were

capable of developing in it prior to the time at which the disinfectant was added.

In order to determine whether the enzyme originated from the bacteria or the milk itself, milk was drawn in sterile vessels with the following precautions: The udder of the animal was thoroughly cleaned by washing, and the foremilk rejected, in order to reduce the bacterial content of the milk as much as possible, and then the antiseptic was immediately added to it. Where the milk was kept constantly under the influence of the chemical in excess and where no bacterial development could be determined, the same disintegrative changes were noted as before.

No satisfactory explanation could now be given for this, unless it was assumed that there was inherent in the milk itself, enzymes of a nature, which, under the conditions of the experiment, were able to digest the casein independent of any bacterial action. Scores of samples of herd milks and milks from individual animals preserved with the different chemical agents named underwent the same change. A chemical analysis of the milks showed a progressive disintegration of the casein and a corresponding increase in albumins, albumoses and peptones. These changes were not uniform with different milks, but in all cases finally resulted in the conversion of by far the larger part of the casein into soluble nitrogenous products.

The following table shows the average amount of soluble proteids, (albumin, albumoses, peptones etc.), found in milks of varying ages that have been kept in contact with preservatives.

	% of proteids in soluble form.
Average of fresh whole milks analyzed . . . . .	21,07
" " whole milks (20—25 days old) . . . . .	38,27
" " centrifugal skim milks (fresh) . . . . .	25,26
" " " " (8 mos.-1 yr. old) . . . . .	73,30
Maximum % found in skim milks . . . . .	91,18

We have failed to find in a thorough search of the literature at our command and reference to the presence of proteolytic enzymes in fresh normal milk. Judging from analogy, however, we might naturally expect that such would be present, inasmuch, as numerous enzymes of this character have been found in the various body fluids, as, for example, in the blood and urine<sup>1)</sup>, and in such tissues as those of the kidney<sup>2)</sup>, muscles<sup>3)</sup>, liver<sup>2)</sup> etc.

Further proof of the enzymic nature of these changes is shown by the stability of milks heated to a sufficient temperature to destroy the action of these ferments, as is seen in milks sterilized by heat according to the usual methods. The same is true when strong disinfectants such as mercury salts, formaline, etc., are used. These do not undergo any change whatever, even though they are kept for indefinite periods of time.

1) Stadelmann, *Jahrb. f. Tierchem.* Bd. XIX, 1890, p. 198.

2) Th. Smith, *N. Y. Med. Journ.* 1894, p. 590.

3) Gamgee, *Phys. Chem. of the Animal Body*. Vol. I. p. 358.

### Isolation of proteolytic Ferments from Milk.

A peculiarity of unorganized ferments is that they readily attach themselves to any finely divided material that may be in the solution. This property is often utilized in the separation of various enzymes. It therefore seemed probable that they might be found in larger amounts associated with the cream and slime- the solids of the milk that are separated in the process of centrifugal creaming. On account of the difficulty of removing the fat from the cream, the slime was chosen for the purpose of isolating the various enzymes of the milk. It may be thought, inasmuch as the slime is so rich in bacteria in any event, that it would not be suitable for this purpose. Granting for the moment that this objection is a valid one, it, however, cannot be denied but that the milk which is used in cheese making almost always contains all of the slime that is present in the whole milk. The use of the centrifugal machines to purify the milk from sediment, etc., has as yet made but little headway even in our American cheese manufacture, and we understand has not yet been introduced into the factories of continental countries. In order to inhibit the development of the bacteria necessarily present in the slime, the same has been subjected to the action of various chemicals that would suspend their activity but not destroy the effect of the unorganized ferments.

By the methods usually employed in isolating enzymes, we have succeeded in obtaining from fresh centrifuge slime kept continuously in contact with chemical disinfectants, various extracts that possess proteolytic properties in a marked degree. Among these is a milk-curdling enzyme, analogous if not identical with rennet; also a digestive enzyme, which is apparently more active in neutral or slightly alkaline solutions than in solutions containing sufficient acid to favor peptic digestion. From incomplete experiments in progress we believe there are enzymes that act in both acid and alkaline solutions. These extracts are remarkably active in reducing hydrogen peroxide, which reaction is common to nearly all unorganized ferments. When such extracts are heated, this power is lost, a change that still further confirms the previous conclusion. The experiment cited below not only shows that the addition of these extracts to milk under anaesthetic conditions hastens very much the proteolytic changes in the same, but also that boiling the extract before adding it to the milk greatly retards the rate of peptone formation.

To a sample of etherized milk a quantity of the enzyme solution was added. To an equal quantity of the same milk, a similar amount was added of a similar solution that had previously been boiled. These were kept under uniform conditions, and after a period of two weeks an analysis for soluble nitrogen in each was made after the following method. The milks were first acidulated with acetic acid and heated to boiling to precipitate the albumen and casein. The N. in filtrate was then determined by the Kjeldahl method. The analytical results were as follows:

N. of substances not precipitated by acid and heat in sample of milk to which the boiled enzyme solution had been added . . . . .	0,27 %
N. of substances not precipitated by acid and heat in sample of milk to which raw enzyme had been added . . . . .	0,42 %

It is evident from this that the digestion of the proteids was greatly facilitated by the addition of this enzyme extract. The rate at which these changes take place in the etherized milk is quite rapid, when compared with the curing changes as they occur in normal cheese. The digestion of the casein in etherized milk containing only the normal amount of enzyme inherent in the same, often equals if not exceeds the rapidity of the corresponding changes in a cheddar cheese. As the enzymes of milk would be largely retained in the cheese, it is extremely probable that the effect of this factor on the ripening of the cheese is by no means inconsiderable. This is confirmed by the fact that the ripening of the cheese continues at a fairly uniform rate, (when kept under the same conditions), even after the bacteria have diminished materially in numbers. That this progressive action is not produced by enzymes elaborated by the bacteria themselves is shown by the uniformity of the rate of change rather than a progressively accelerated action.

#### Relation to current Theories of Cheese Ripening.

The overwhelming predominance of lactic acid bacteria in hard cheese in contradistinction to the liquefying or digesting organisms has given rise to the theory that these organisms are the "chief, if not the only agent" in the peptonization of the casein. This view has been ably expounded by Freudenreich, and Lloyd, who attach to this type of bacteria a leading rôle in the ripening of cheese. The apparent inability of these organisms, judging from physical examination, to digest casein in milk cultures or liquefy gelatin, makes such a view seem paradoxical, and numerous attempts have been made to reconcile these discrepancies. Freudenreich has recently shown (*Diese Zeitschrift*. 2. Abt. Bd. III. p. 234) that pure cultures of different lactic acid-forming bacteria are able to convert a certain amount of the insoluble N-compounds of milk into a soluble form.

In describing his experiments, he says: (*Centralbl. f. Bakt.* Bd. III. 1897. p. 234).

„Daraus ergibt sich also, daß Milchsäurefermente fähig sind, das Kasein in lösliche Produkte überzuführen, und dieses muß mit Rücksicht auf ihre so starke Vermehrung im reifenden Käse zu der Annahme führen, daß dieselben bei der Reifung des Käses sich hauptsächlich beteiligen, da der Reifungsprozeß gerade in der Ueberführung eines Teiles der Eiweißsubstanz in lösliche Produkte besteht. Meine früher ausgesprochene Vermutung, daß sie bei der Reifung des Käses eine große, vielleicht sogar die alleinige Rolle spielen, gewinnt dadurch an Wahrscheinlichkeit.“

The action of the enzymes in normal milk was greatly weakened and probably excluded in Freudenreich's experiments, as in all others heretofore reported, for the reason that bacterial cultures must necessarily be grown in sterile milk in order to ascertain their specific effect, and that the usual methods followed in obtaining such milk would practically annihilate the soluble ferments.

Hitherto the inherent enzymes of milk as a factor in the curing of cheese have not been recognized as their presence was not known. That their influence is considerable and that the proteolytic changes in cheese might be accounted for by this action is quite probable, but the relative importance of this factor compared with the action of microorganisms in the normal curing of cheese is yet undetermined and therefore the comparative value of each at the present time can not be made.

The following table shows the relative rate of proteid disintegration in milks kept under the influence of ether, and cheese undergoing its normal changes. In this table the soluble proteids include all nitrogenous compounds that are not precipitated by acids or by heat.

Milks.		% of protein in soluble form exclusive of albumins.
Age.		
Fresh	(average of 15 samples)	8,71
8 days old	( " " 5 " )	23,55
20 " "	( " " 5 " )	32,56
8 months		64,74
10 "		68,38
Cheese.		
3 days old		6,50
8 " "		7,75
26 " "		17,25
46 " "		22,50
6 months		52,92
18 "		63,00

### Conclusion.

These experiments indicate that milk kept in contact with an excess of chemical substances that destroy the metabolic activity of microorganisms but do not suspend entirely the action of unorganized ferments will undergo a series of chemical transformations, similar to those that occur in the normal ripening of cheese, and we conclude from experiments already made that the enzymes present in milk that is used in the manufacture of cheese, and undoubtedly inherent in the milk itself, are very important factors in the breaking down of the casein in the normal ripening of cheese. In any event it must be admitted that the transformation of the casein in this process is not entirely due to the action of micro-organisms, but is shared to a large degree by the action of these ferments whose presence and effect has heretofore not been recognized.

Madison, Wis., U.S.A., August.

Nachdruck verboten.

## Bemerkungen zu der Mitteilung von Dr. W. Rullmann: „Ueber ein Nitrosobacterium mit neuen Wuchsformen“<sup>1)</sup>.

Von

R. Hartleb und A. Stutzer.

In einer kurzen Abhandlung macht Rullmann auf eine, wie er meint, neue Wuchsform von Nitrosobakterien aufmerksam und legt ihr den Namen „Nitrosobacterium formae novae“ bei. Sie ist nach Annahme von Rullmann von der *Streptothrix dichotoma* und *odorifera* verschieden. Nach unserer Ansicht ist das angeblich neue Bakterium ein besonderes Entwicklungsstadium des von uns als „Salpeterpilz“ bezeichneten Organismus.

Wir glaubten die auch von uns schon vor einem Jahre beim Salpeterpilz beobachtete Form als eine Spore mit sehr langen Geißeln ansehen zu müssen, indes waren wir damals über die wahre Natur des Organismus nicht ganz im klaren. Heute können wir Rullmann's Frage, welcher Art die fadenförmigen Auswüchse dieser Mikroorganismen sind, dahin beantworten, daß sie aus Anlagen zu Mycelfäden bestehen. Der Vorgang ist der, daß die ursprünglich als Chlamydosporen vorhandenen, bisher als Bakterien angesehenen Formen zum Mycel auswachsen, und zwar entsteht auf wenig geeigneten Nährmedien ein einfacher Mycelfaden, in besser geeigneteren Medien kann hin und wieder auch ein verzweigtes Mycel wachsen. In diesen Mycelfäden werden nach Anschwellung des Fadens an verschiedenen Stellen Chlamydosporen gebildet, die nach der Reihe derselben sich an einem Ende aus den Mycelfäden loslösen, während am anderen Ende der Faden bis zur nächstgebildeten Chlamydospore oft haften bleibt und erst allmählich resorbiert wird. So kommt es vor, daß, je nachdem in längeren oder kürzeren Intervallen Chlamydosporen im Faden gebildet sind, man längere oder kürzere Anhängsel an den ovoiden Sporen findet. Auch von uns wurde schon früher die Beobachtung gemacht, daß die Färbbarkeit des Plasmas der Chlamydospore keine gleichmäßige ist, sondern die Polenden den Farbstoff stärker aufnehmen, wodurch uns die Wahrscheinlichkeit der endogenen Sporenbildung gegeben war, und halten wir die Möglichkeit einer Fortpflanzung und Vermehrung durch endogene Sporenbildung aus den Chlamydosporen auch fernerhin aufrecht. Wir beobachteten die von Rullmann beschriebene Form nicht nur auf festen Nährböden (z. B. in Strichkulturen auf sterilen Möhren), sondern auch in flüssigen Kulturen. In ruhigstehenden flüssigen Kulturen wird zeitweise Mycel gebildet, welches bei starker Anreicherung der Organismen Veranlassung werden kann, daß Teile der sonst sich am Boden der Kulturgefäße befindenden Mycelien an die Oberfläche der Flüssigkeit treten und entweder eine dünne Haut bilden oder als feine weiße

1) Bd. III. No. 9/10. p. 228—231 dieser Zeitschrift.

Schollen auf der Kulturflüssigkeit schwimmen. In der dünnen Haut, welche 2—3 Wochen nach dem Impfen erscheint, finden sich genau dieselben Wuchsformen, welche Rullmann beschreibt. Nach der Uebertragung auf Nitrataragar entstehen wieder Stäbchen, welche Thatsache auch von Rullmann erwähnt wird. Die nicht immer sich bildenden weißen Schollen bestehen aus kettenförmig aneinander gelagerten Chlamydosporen und entsprechen der früher von uns bezeichneten „kreideweißen Auflagerung“.

Das *Nitrosobacterium formae novae* halten wir somit für ein besonderes Entwicklungsstadium unseres Salpeterpilzes.

23. Aug. 1897.

*Nachdruck verboten.*

## Das Verhältnis der denitrifizierenden Bakterien zu einigen Kohlenstoffverbindungen.

Von

**Hjalmar Jensen**

aus

Kopenhagen, z. Z. in Bonn.

Zur Beantwortung wurde mir von Herrn Prof. Stutzer folgende Frage gestellt: „Welche Verhältnisse bestehen zwischen der Wirkung der Salpeter-zerstörenden Bakterien und der Menge der ihnen zur Verfügung stehenden organischen Kohlenstoffverbindungen?“

Durch Experimente, über welche schon in einer vorläufigen Mitteilung<sup>1)</sup> geredet ist, sollte möglicherweise eine Erklärung für gewisse Beobachtungen gegeben werden. Von Wagner, Maercker, Schneidewind und Déhérain sind viele Versuche über die denitrifizierende Eigenschaft von Erde, Stroh und Mist von verschiedenen Tieren ausgeführt, und zwar zum Teil mit ungleichen Resultaten.

In der Hauptsache wurde folgendes gefunden: 1) Stroh oder Erde allein wirken sehr schwach zersetzend auf den Salpeter ein (Wagner); 2) dagegen ruft ein Gemenge von diesen beiden Substanzen (Wagner) oder ein Zusatz von Stärke (Déhérain) eine lebhaftere Denitrifikation hervor; 3) Pferdemist wirkt stärker als Kuhkot; der letztere zersetzt den Salpeter etwas kräftiger als Schafkot (Maercker, Schneidewind); 4) alter Mist hat seine denitrifizierende Wirkung eingebüßt (Wagner, Schneidewind); und 5) eine kleine Menge von Mist wirkt entweder gar nicht (Déhérain) oder jedenfalls schwächer als eine größere Menge (Schneidewind).

Durch Versuche war festzustellen, ob diese verschiedenen Beobachtungen durch ungleich vorhandene Mengen von löslichen Kohlenstoffverbindungen eine Erklärung finden könnten.

Zu den obenerwähnten Düngungs- und Laboratoriumsversuchen

1) Deutsche Landw. Presse. 1897. No. 78.

ist zu bemerken, daß bei keinem von diesen mit Reinkulturen von Bakterien gearbeitet ist. Um zuverlässige Erläuterungen über die Physiologie der Bakterien zu erhalten, ist es notwendig, sowohl mit den Bakterien in ihren natürlichen Verhältnissen, also im Gemenge mit anderen Bakterienarten, wie auch mit Reinkulturen zu arbeiten. Infolgedessen habe ich teils Versuche angestellt, in welchen als Gärungserreger Erde, Stroh und Mist in natürlichem Zustande angewendet wurden teils Versuche mit Reinkulturen von Bakterien ausgeführt.

#### A. Versuche mit Reinkulturen.

Für diese Versuche sind verschiedene Formen denitrifizierender Bakterien benutzt: zwei wurden aus alten, hier im Bonner Laboratorium vorhandenen, anscheinend nicht mehr reinen Bouillonkulturen isoliert und eine dritte aus frischem Kubkot gewonnen. Die Züchtungsmethode war die im bakteriologischen Praktikum gewöhnliche: Erst wurden von der unreinen Kultur, bezw. von den Mistsorten kleine Mengen in Salpeterbouillon (0,3 Proz. Salpeter enthaltend) übertragen und von einer solchen gärenden Kultur sind Gießplatten mit Bouillon-Pepton-Agar angelegt. Im Thermostaten (30°) wachsen die denitrifizierenden Bakterien sehr schnell; im Laufe von 1—2 Tagen sind die Kolonien gewöhnlich ausgebildet; Töchtergießplatten wurden nun mehrmals angefertigt, bis 2 aufeinanderfolgende Serien solcher Platten nur eine Sorte von Kolonien ohne irgend welche Verunreinigungen hatten.

Die Reinkulturen sind in Salpeterbouillon weiter kultiviert. Die Morphologie dieser Formen näher zu behandeln, hoffe ich später Gelegenheit zu haben; in physiologischer Beziehung, die uns zunächst hier interessiert, verhalten sie sich alle in der Hauptsache gleich, weshalb ich eine nähere Beschreibung übergehe. Nur soll bemerkt werden, daß alle diese Bakterien, wie auch *B. denitrificans* II, imstande sind, allein Salpeter zu zerlegen<sup>1)</sup> und daß sie aërob gezüchtet wurden.

Stets sind 10 ccm der Nährlösung in Probiergläser gebracht und nach der Impfung in den Thermostaten (30°) gestellt worden.

Aus früheren Beobachtungen geht hervor, daß Bouillon mit einem Zusatz von 0,3 Proz. Salpeter eine sehr vorzügliche Nährlösung ist; schon nach 24 Stunden kann der Salpeter vergoren sein unter Erscheinen der sehr charakteristischen Schaumbildung.

Ferner ist gefunden worden, daß ein Wachstum, Schaumbildung und Zersetzung des Salpeters in Lösung nach Giltay & Aberson, jedoch viel langsamer (gewöhnlich in 4 Tagen) und nicht so lebhaft wie in Salpeterbouillon stattfindet. Diese Lösung ist zusammengesetzt aus:

2 g	NaNO <sub>3</sub>	pr. l.
2 „	MgSO <sub>4</sub>	„
2 „	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	„
0,2 „	CaCl <sub>2</sub>	„
2 „	Glukose	„
5 „	Citronensäure	

Die Säure wird mit Soda neutralisiert.

1) Siehe Stutzer und E. Burri, dieses Centralbl. 1895. p. 625.



Der große Unterschied in der Wachstumsfähigkeit der Organismen kann vielleicht dadurch erklärt werden, daß die Salpeterbouillon sehr verschiedene und leicht zerstörbare, die Lösung von Giltay & Aberson dagegen nur zwei Kohlenstoffverbindungen von anderer Zusammensetzung enthält.

Ich stellte nun die Frage, ob die beiden Kohlenstoffverbindungen der zuletzt genannten Lösung gebraucht würden, oder ob eine derselben genügend ist. Es wurden Versuche angestellt mit normaler Lösung nach Giltay & Aberson, zweitens mit solcher ohne Glykose, aber mit Citronensäure und drittens mit Glykose und ohne Citronensäure.

Tabelle I<sup>1)</sup>.

nach	3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen
normale Giltay & Aberson-Lösung	—	S	0
dto. ohne Glykose	S	S	0
„ „ Citronensäure	—	—	+ kein Wachstum

Aus der Tabelle ersieht man, daß Citronensäure allein wohl genügt, um den Bakterien den notwendigen Kohlenstoff zu liefern, daß dagegen Glykose allein gar nicht verbraucht werden kann; ja sie wirkt sogar in den Kulturen, in welchen sie neben der Citronensäure vorhanden ist, etwas verzögernd, indem die Schaumbildung in den Kulturen ohne Glykose 1 Tag früher eintrat, als in den Kulturen mit beiden Kohlenstoffquellen.

Ganz dieselben Resultate erhält man mit citronensaurem Kali:

Tabelle II.

nach	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen
Giltay & Aberson m. citrons. Kali	+ K	S	+
dto. m. dto. ohne Glykose	+ K	S	0
„ „ citr. Kali	—	—	+ kein Wachstum

auch hier tritt keine Gärung in den Kulturen mit Glykose allein ein, und wenn Glykose neben der Citronensäure vorhanden ist, wirkt erstere verzögernd.

Man könnte nun geneigt sein, hieraus zu schließen, daß Zucker ganz unbrauchbar als Kohlenstoffquelle wäre; aber dies ist nicht der Fall, wie aus folgendem Versuch ersichtlich ist

Tabelle III.

nach	2 Tag.	3 Tag.		8 Tagen	11 Tagen	12 Tag.		22 Tagen	
Giltay & Aberson	trübe	S	0	schwache Reaktion mit Fehling, kein Schaum	0,02g NaNO <sub>3</sub> zuges.	S	+	keine Reaktion mit Fehling	schw. +

1) Hier und in den folgenden Tabellen bedeutet: — keine Schaumbildung und Salpeterreaktion unverändert; S = Schaumbildung, SS = starke, SSS = sehr starke Schaumbildung, 0 = keine Salpeterreaktion, + Salpeterreaktion vorhanden, K = Kahmhaut.

Als zum erstenmal der Salpeter (0,2 Proz.) vergoren war, zeigte die Lösung eine ziemlich schwache Reaktion mit der Fehling'schen Flüssigkeit; zur Kontrolle wurde gleichzeitig eine Probe mit der ursprünglichen Giltay & Aberson-Lösung gemacht, und diese gab einen starken roten Niederschlag. Zum zweitenmal wurde der Flüssigkeit sterile Salpeterlösung zugesetzt, und schon nach einem Tage war wieder eine Schaumbildung eingetreten, indessen wurde die ganze Salpetermenge in der angegebenen Zeit nicht zerlegt, dagegen verschwand der Zucker vollständig. Also: bei Zusatz von Salpeter wurde eine größere Menge von den disponiblen Kohlenstoffverbindungen verbraucht, und besteht ein Zusammenhang zwischen der zerstörten Salpetermenge und den verbrauchten Kohlenstoffverbindungen.

Dieses gegenseitige Verhältnis zwischen der vergorenen Salpetermenge und der verbrauchten Kohlenstoffmenge tritt noch deutlicher in einem Versuche hervor, in welchem Lösung nach Giltay & Aberson mit steigenden Mengen von Glykose in Anwendung gebracht wurde. Die Resultate (in Tabelle 4) zeigen, daß die Kultur

Tabelle IV.

nach	2 Tag.	3 Tagen	7 Tg.	8 Tagen	13 Tagen
Gilt. & Abers. mit 0,2 Proz. Zucker	+ K	SS 0 0,02 g NaNO <sub>3</sub>	0 0,02 g NaNO <sub>3</sub>	+ zuges.	
dto. — 0,4 dto.	+ K	SS 0 0,02 g dto.	0 0,02 g dto.	0 0,02 g zuges.	
„ — 0,6 „	+ K	SS 0 0,02 „ „	0 0,02 „ „	0 0,02 „ „	
„ — 0,8 „	+ K	S 0 0,02 „ „	0 0,02 „ „	0 0,02 „ „	
„ — 1,0 „	trübe	S 0 0,02 „ „	0 0,02 „ „	0 0,02 „ „	

nach	16 Tagen	20 Tagen	22 Tagen	27 Tagen
Gilt. & Abers. mit 0,2 Proz. Zucker	+	+	+ 0,02 g Zucker zuges.	0
dto. — 0,4 dto.	+	+	+ 0,02 g dto.	0
„ — 0,6 „	0 0,02 g NaNO <sub>3</sub>	0 0,02 g NaNO <sub>3</sub>	+ 0,02 „ „	0
„ — 0,8 „	0 0,02 „ „	0 0,02 „ „	+ 0,02 „ „	0
„ — 1,0 „	0 0,02 „ „	0 0,02 „ „	0 0,02 „ NaNO <sub>3</sub>	+

mit geringen Zuckermengen (0,2 Proz.) schon nach 13 Tagen „zuckerhungrig“ war. In dieser Zeit ist zweimal 0,02 g Salpeter neu zugesetzt, also im ganzen sind 0,06 g Salpeter vergoren. Mit Zugabe von 0,4 Proz. Zucker war die Kultur erst nach dreimaligem Zusatz von 0,02 g Salpeter im Laufe von 16 Tagen „zuckerhungrig“, mit 0,6 Proz. und 0,8 Proz. erst nach fünfmaligem Zusatz in 22 Tagen, und dem Versuche mit 1,0 Proz. Zucker konnte sechsmal in 27 Tagen 0,02 g Salpeter zugesetzt werden, erst dann war der Zucker verbraucht. Daß die Kulturen wirklich „zuckerhungrig“ waren, und daß das Aufhören der Gärung nicht von einem Anhäufen von kohlen-saurem Alkali<sup>1)</sup> oder von anderen Gärungsprodukten herrührte,

1) vergl. Burri & Stutzer, Centrbl. f. Bakt. u. Parasitk. II. Abt. 1895. p. 395.

wird dadurch bewiesen, daß die Gärung und die Salpeterzerstörung bei neuem Zusatz von Zucker wieder auftrat.

Im Anfange des Versuches zeigt die verzögernde Wirkung des Zuckers sich dadurch, daß die Bakterienentwicklung und die Schaumbildung später und weniger kräftig in den Kulturen mit 0,8 Proz. und 1,0 Proz. Zucker eintrat, als in den anderen Kulturen. Auch durch Versuche mit Knop'scher Lösung (pr. 1: 1,0 g  $\text{CaN}_2\text{O}_6$ ; 0,25 g  $\text{Mg SO}_4$ ; 0,25 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,25 g  $\text{KCl}$ ) + 0,2 Proz. Salpeter wurde das Resultat erreicht, daß Zucker allein von Reinkulturen der denitrifizierenden Organismen nicht verbraucht wird, während Citronensäure mit oder ohne Zusatz von Zucker für die Gärung genügt. Von der Knop'schen Salzmischung wurden Lösungen von verschiedener Konzentration genommen (0,5 ‰, 2 ‰ und 4 ‰). Aus folgender Tabelle geht hervor, daß die Unbrauchbarkeit einer Mischung der Knop'schen Salze mit Glykose nicht dem Vorhandensein von  $\text{CaN}_2\text{O}_6$  und  $\text{KCl}$  (welche Stoffe der Knop'schen Lösung im Gegensatz zur Giltay- und Aberson-Lösung eigentümlich sind) zuzuschreiben sind, sondern nur den Mangel an leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen. Bei Abwesenheit von  $\text{CaN}_2\text{O}_6$  und  $\text{KCl}$  konnte während der Versuchsdauer (22 Tage) eine Gärung nicht hervorgerufen werden, wenn die Citronensäure fehlte.

Tabelle V.

Knop (0,5 ‰, 2 ‰, 4 ‰)	+ Glykose (0,2 ‰)	Kein Wachstum
dto.	+ „ + Citr. Na (Citr. K) (0,5 ‰)	Wachstum
dto.	keine „ + dto.	„
dto.	ohne $\text{CaN}_2\text{O}_6$ + Glykose	Kein Wachstum
dto.	„ „ + „ (Citr. K) (0,5 ‰)	Wachstum
dto.	„ „ keine „ + dto.	„
dto.	„ „ ohne $\text{KCl}$ + Glykose	Kein Wachstum
dto.	„ „ „ + „ +	„
	Citr. Na (citr. K) (0,5 ‰)	Wachstum
dto.	ohne $\text{CaN}_2\text{O}_6$ ohne $\text{KCl}$ + Glykose +	„
	Citr. Na (citr. K) (0,5 ‰)	„

Mit dem Wachstum der Bakterien war selbstverständlich auch hier stets eine Denitrifikation verbunden. Mit einer sonst normalen Lösung nach Giltay und Aberson, welcher jedoch Glycerin statt Zucker zugesetzt war, wurden Versuche mit und ohne Zugabe von Citronensäure ausgeführt. Das Resultat war dasselbe, wie es für Zucker gefunden war. Glycerin allein kann nicht die Gärung hervorrufen, dagegen Citronensäure allein oder ein Gemenge von Citronensäure mit Glycerin. Die Citronensäure wird selbstverständlich nicht in freiem Zustande, sondern als Salz gegeben.

Von Déhérain<sup>1)</sup> wird angegeben, daß Stärke von den denitrifizierenden Bakterien verbraucht wird. Es wurden daher mit diesem Stoffe, sowohl allein als auch in Verbindung mit Glycerin, Kulturversuche mit Reinkulturen angestellt, aber stets (wie Tabelle 6 zeigt) mit negativem Resultate.

1) Ann. agron. 1897. p. 49.

Tabelle VI.

Bouillon und Stärke (rohe u. gekochte) $K_2HPO_4$ + dto. Knop (0,5%) + Stärke mit Glycerin " + " ohne " + Glykose + Citr. Na	Wachstum u. Denitri- fikation eingetreten
	nach 1 Tag überhaupt nicht " " " " nach 5 Tagen

Die Stärke und das Glycerin wurde teils einer Knop'schen Lösung (0,5 Proz.), teils einer Lösung nach Déhérain (100 ccm  $H^2O$  + 0,01 g  $K_2HPO_4$  + 0,2 g Stärke (beide mit einem Salpetergehalt von 0,02 Proz.) zugesetzt. Die Stärke ist teils in gekochtem Zustande, teils trocken sterilisiert angewendet. Als Kontrolle zur Lebensfähigkeit der Bakterien diente Salpeterbouillon + Stärke. In der gleichen Weise wie Zucker und Glycerin kann Stärke allein den denitrifizierenden Bakterien nicht als Kohlenstoffquelle dienen, wenn diese in Reinkulturen vorhanden sind.

Außer Citronensäure wurde die bei den natürlichen Gärungen der Kohlenhydrate und des Glycerins auftretende Milchsäure, Buttersäure sowie auch die Ameisensäure geprüft. Die Nährlösungen sind wie die gewöhnliche Lösung nach Giltay und Abersson zubereitet, nur daß statt Citronensäure eine von den genannten Säuren angewendet wurde.

Tabelle VII.

	nach	2 Tagen	3 Tagen	6 Tagen
Gilt. & Abers. mit Milchsäure		trübe	S	0
" " Buttersäure		trübe	SS	0
" " Ameisensäure		klar	klar	+ überhaupt kein Wachstum

Aus Tabelle VII geht hervor, daß die Ameisensäure nicht anwendbar ist. Möglicherweise äußert sie hier, wie auch anderswo, giftige Eigenschaften. Dagegen können sowohl Milchsäure und Buttersäure als sehr gute Kohlenstoffquellen für die denitrifizierenden Bakterien dienen. Der Unterschied zwischen der Buttersäure und Milchsäure war sehr klein, doch scheint es, daß Buttersäure besser wirkt.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die im Mist vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserlich-russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

### Dritte Mitteilung.

Von

S. A. Sewerin.

Mit 2 Figuren.

Die vorliegende Mitteilung erscheint als Fortsetzung meiner zwei ersten Arbeiten, die in dieser Zeitschrift. 1895. No. 3, 22/23 abgedruckt wurden. Als Material für die vorliegende Arbeit dienten mir die Resultate noch einer bakteriologischen Analyse von Pferdemist und außerdem einige Versuche, die physiologische Seite der Frage betreffend.

Der Mist, der zur Untersuchung dienen sollte, wurde aus einem Misthaufen aus der Tiefe von  $\frac{1}{2}$  m genommen, das Alter des Mistes betrug 2—3 Monate. Bevor zur Untersuchung geschritten wurde, unterwarf ich den Mist im Laufe von 10 Monaten anaëroben Lebensbedingungen; zu diesem Zwecke wurde der Mist in einen Erlenmeyer'schen Kolben von 3 l Inhalt fest eingestampft, der Hals des Kolbens mit einem Gummistopfen fest verschlossen und mit Siegellack verklebt; der Stopfen enthielt ein Abzugsröhrchen, welches mit einem Aspirator verbunden war. Im Verlaufe aller 10 Monate konnte eine reichliche Gasentwicklung konstatiert werden; wie die Zusammensetzung derselben war, konnte ich leider nicht bestimmen, da keine Gasanalyse ausgeführt wurde. Eins kann ich nur sagen, daß dieses Gas brennbar war, da dasselbe, durch einen Gasbrenner geleitet, sich entzündete und mit blaßbläulicher Flamme verbrannte; am allerwahrscheinlichsten stellte dasselbe eine Mischung von Methan und Wasserstoff dar. Nach Verlauf der 10 Monate wurde der Kolben geöffnet; der Mist zeigte alkalische Reaktion und besaß einen schwachen Geruch nach Schwefelwasserstoff. Die mikroskopische Untersuchung zeigte hauptsächlich die Gegenwart von Sporenkulturen nebst einer sehr geringen Menge von Stäbchen im Mist. Im weiteren wurde derselbe einer bakteriologischen Prüfung unterworfen, zu welchem Zwecke eine Reihe von aëroben Plattenkulturen und eine Reihe von anaëroben Impfungen nach den Methoden von Vignal, Liborius, Roux und in anaëroben Röhrchen von Pasteur ausgeführt wurde.

Die Resultate der Analyse waren folgende: Es wurden isoliert und genauer untersucht 7 Reinkulturen, unter denselben 4 anaërobe, 1 fakultativ anaërobe und 2 streng anaërobe Kulturen. Von den 4 aëroben Kulturen gehörte die eine zur Art der *Streptothrichen* (nach Sauvageau und Radais-Oospora), die zweite ist von

mir schon früher als No. 1 beschrieben worden, die dritte stellte eine nicht verflüssigende Fluorescensart vor, die vierte, eine von mir nicht bestimmte Art, von stäbchenartiger Form mit der Fähigkeit begabt, Endosporen zu bilden; der fakultative Aërob war *B. pyocyaneus*; die beiden anaëroben waren mir unbekannte Arten und augenscheinlich überhaupt noch nicht beschrieben. Von allen isolierten Kulturen will ich die Beschreibung bloß dreier Arten hier anführen, der zwei von mir noch nicht bestimmten Anaëroben und der *Streptothrix*. Die anaëroben Arten bieten ein gewisses Interesse dar schon kraft ihrer anaëroben Natur und außerdem infolge einiger äußerst charakteristischer Merkmale, durch welche sie sich an die Tetanusgruppe (Flügge) anschließen. Die Beschreibung des *Streptothrix* will ich deshalb anführen, weil erstens infolge gewisser Eigentümlichkeiten er zu keiner von den bis jetzt beschriebenen Arten gezählt werden kann, und zweitens infolge einzelner nicht wenig interessanter Eigentümlichkeiten seines Wuchses im wässrigen Auszuge von Mist. Uebrigens gelang es mir, *Streptothrix*fäden nicht selten schon bei meinen drei ersten Analysen unter dem Mikroskop zu beobachten. Damals glaubte ich, in denselben das Mycelium irgend welcher Schimmelart vor mir zu haben, erst jetzt, nachdem dieselben in Reinkulturen sich mir vorstellten, sah ich, daß dieselben *Streptothrix*fäden waren. Nach diesen Vorbemerkungen will ich zur Beschreibung übergehen.

Form der Kolonien auf Agar nach 24 Stunden bei 30° C. Wie auf der Oberfläche des Substrates, so auch in der Tiefe haben die Kolonien gleiches Aussehen, dieselben sind klein, rund, aus dicht zusammengeflochtenen, zarten, verästelten Fäden zusammengesetzt, die ganze centrale Partie hat die Form eines dunkelbraunen Fleckes, infolgedessen ist hier keine besondere Konstruktion zu erkennen, bloß nach der Peripherie hin, wo die Färbung heller wird, tritt die fadenförmige Konstruktion deutlich hervor; im ganzen hat die Kolonie ein zottiges Aussehen. Makroskopisch sind dieselben rund, porzellanartig, flach, von sehr fester Konsistenz, so fest, daß sie den Eindruck einer Hornbildung machen; eine Probe mit dem Platindraht erhält man nur beim Abheben der ganzen Kolonie.

Form der Kolonie auf Gelatine bei gewöhnlicher Temperatur. Die Kolonien erscheinen erst nach 5—6 Tagen; die in der Tiefe des Substrates befindlichen haben die Form von Knäueln, aus kurzen, zarten, farblosen, verwirrten Fäden bestehend, der centrale Teil ist dunkler, gelblich-braun; bei der fernerer Entwicklung isoliert sich der centrale Teil immer mehr und mehr, wird dunkler, und infolgedessen lassen sich die Fäden bloß an der Peripherie beobachten. Die Kolonien an der Oberfläche sind rund, dunkelbraun, mit höckeriger Oberfläche, dunklen, unregelmäßigen Umrissen, von welchen kurze, zarte Haargebilde ausgehen. Makroskopisch runde, ziemlich flache, mattweiße Knöpfe von sehr fester Konsistenz.

Strich auf Agar bei 30° C nach 24 Stunden: Flacher, schmaler, perlmutterglänzender, sehr fester Streifen; bei durchfallendem Licht sieht man, daß derselbe aus feinen, runden Kolonien besteht. Nach 2 Tagen ist der Strich bedeutend breiter geworden, von gelblicher

Farbe, undurchsichtig, mit zarten Höckerchen bedeckt, die untere Oberfläche des Striches wächst ein wenig in die Tiefe des Substrates, wobei nach allen Seiten eine Menge von geraden, zarten Fäden sich erstreckt, so daß der ganze Strich (von der Seite gesehen) das Aussehen eines zottigen Streifens bekommt. Der Strich behält diese Form auch weiterhin, bloß daß er seine erhabene Form allmählich verliert und flacher wird, infolgedessen er immer tiefer in die Agar-masse hineinwächst. An der Oberfläche des Striches erscheinen hier und da weiße Anflüge, welche unter dem Mikroskop aus Sporen bestehen; diese Sporen sind von etwas länglicher Form, verschiedenartig miteinander vereinigt, bis zur Kettenform. Im allgemeinen geht aber die Sporenbildung im Strich ziemlich langsam vor sich.

Der Strich auf Gelatine nach 3—4 Tagen ist flach, körnig, sehr fest, nach 6 Tagen erscheinen unter dem Strich Vertiefungen von rinnenförmiger Gestalt, als Folge der beginnenden Verflüssigung der Gelatine; nach 2 Wochen ungefähr gleitet die schräge Oberfläche abwärts, die verflüssigte Gelatine ist klar, von dunkelgelber Farbe, der Strich selbst schwimmt auf der Flüssigkeit in Form einer festen, unzertrennlichen, zusammenhängenden Masse.

Der Stich in Gelatine nach 2 Tagen bei gewöhnlicher Temperatur ist dünn, durchsichtig, zusammenhängend, nach einer Woche bildet sich an der Stelle des Einstiches von oben eine kleine, gelblich-weiße, matte Anhäufung, unter derselben eine schalenförmige Vertiefung, von allen Seiten mit einer matten und reichlichen Lage von Kultur umgeben; der Stich selbst ist ziemlich reichlich entwickelt, er ist undurchsichtig, nach allen Seiten erstrecken sich steruformig zarte, gerade, kurze Härchen, infolgedessen der Strich zottig erscheint. Im Laufe der Zeit wird die Vertiefung größer und größer, die Anhäufung von Kultur um dieselbe herum reichlicher; nach ungefähr 3 Wochen ist die obere Schicht der Gelatine verflüssigt, die verflüssigte Gelatine ist trübe, ihre Farbe ist aber unverändert geblieben; der Stich selber hat seine Form nicht geändert.

Impfung in Bouillon. Wie an den ersten Tagen nach der Impfung, auch an den folgenden die Bouillon vollständig klar ist; beim Umschütteln derselben erheben sich vom Boden kleine, runde, zottige Klümpchen, welche unter dem Mikroskop dieselbe Form zeigen, wie die Kolonien auf Agar oder Gelatine, d. h. sie bestehen aus dicht zusammengeflochtenen verästelten Fäden. Bei der Färbung mit Methylenblau nach Ziehl und nach Gram wird ein und dasselbe Bild erhalten. Die Fäden bilden echte Verzweigungen, die Mehrzahl der Fäden färbt sich gleichmäßig, jedoch nicht wenige der Fäden werden sehr ungleichmäßig gefärbt (besonders bei der Doppelfärbung nach Ziehl und mit Methylenblau); in solchem Falle haben sie die Form von stellenweise der Länge nach sehr schwach und an anderen Stellen sehr intensiv gefärbten Fäden. Die intensiv gefärbten Stellen haben verschiedene Form und Länge, bald in Form von länglichen Kokken, bald von kürzeren oder längeren Stäbchen, außerdem sind dieselben nicht in gleichen Entfernungen voneinander gestellt, sondern erscheinen in sehr verschiedenen Zwischenräumen voneinander getrennt. Im allgemeinen erhält man den Eindruck, als ob

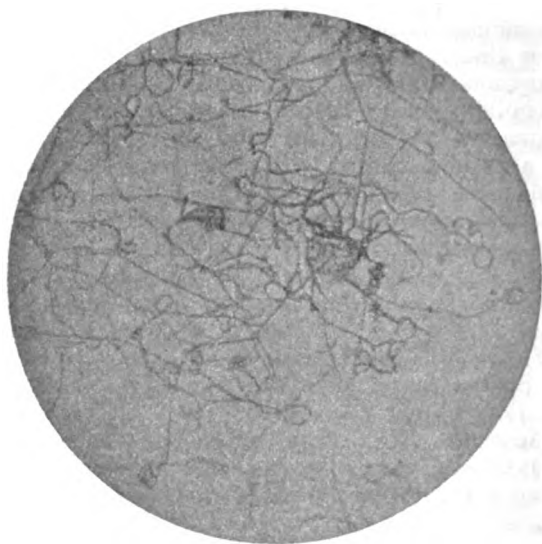
in einem blaßblauen Faden verschiedener Länge dunkelblau gefärbte Kokken und Stäbchen verteilt wären (eine Differentialfärbung nach Ziehl wird nicht erhalten), dabei in verschiedenen Entfernungen von einander. Die Fäden selbst sind bald dicker, bald dünner (die dickeren Fäden sind nicht das Resultat der Vereinigung von zwei Fäden), die dünnen Fäden stellen augenscheinlich Seitenfäden vor. Die Dicke der Fäden beträgt 1—1,5  $\mu$ . Nach Verlauf eines Monats hat die Kultur immer dasselbe Aussehen, die Bouillon ändert ihre Farbe nicht, Sporenbildung wird nicht beobachtet und die Fäden bieten keine Anzeichen von Zerfall. In Bierwürze entwickelt sich der Mikroorganismus, aber bloß an der Oberfläche der Flüssigkeit, wo er ein zusammenhängendes Häutchen bildet, auf welchem nach Verlauf einiger Zeit, infolge von Sporenbildung, ein weißer Anflug erscheint.

In einem wässerigen Auszuge von Mist, welcher mit Hilfe von Eiweiß geklärt, und darauf sterilisiert worden ist, bilden sich ebensolche Knäuelchen, wie in der Bouillon, bloß daß sie sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit entwickeln, wo sie ein Häutchen bilden; nach Verlauf von 3 Tagen erscheint auf dem Häutchen ein weißer Anflug, aus Sporen bestehend. Bei einer Erschütterung sinkt das Häutchen zu Boden, und an Stelle des untergesunkenen bildet sich ein neues Häutchen. Wie schon früher bemerkt wurde, entwickelt sich in der Bouillon, im Gegensatz zum Mistauszuge, die Kultur immer am Boden des Probierröhrchen und eine Sporenbildung wird nicht beobachtet.

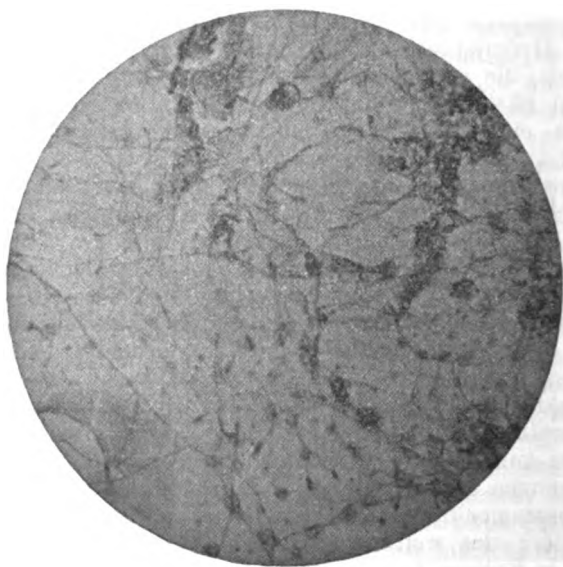
Im hängenden Tropfen Bouillon ist die Entwicklung dieselbe, wie im Probierröhrchen mit Bouillon. Sporenbildung wird nicht beobachtet. Dagegen findet Sporenbildung statt, wenn der hängende Tropfen aus wässerigem Mistauszuge oder aus einem Tropfen dieses Auszuges, gemischt mit einem Tropfen gewöhnlicher Bouillon, oder endlich aus Hefenwasser besteht. Zur Impfung dienten zum größten Teil Kulturen, die auf Kartoffel gewachsen waren, oder Kulturen auf sterilisiertem Miste. Gewöhnlich tritt die Bildung von Konidien nach 2—3 Tagen ein, zuweilen später; die sporenbildenden Enden der Zweiglein stellen sich in Form von mehr oder weniger langen Ketten, aus länglichen Sporen bestehend, dar. Jedoch stößt man nicht selten auf ein solches Bild, wo die Enden der sporentragenden Zweiglein außerordentlich verschiedenartig ausgebogen und gekrümmt sind, am häufigsten in Form einer Spirale oder Uhrfeder; bedeutend seltener beobachtet man, daß überhaupt das ganze Mycelium auf die mannigfaltigste Art sich zu drehen beginnt und Schlingen bildet. Mir gelang es, zu beobachten, daß eine derartige Drehung der Enden der Sporenbildung vorangeht. Wenn man auf diese Art irgend eine Stelle des hängenden Tropfens unter dem Mikroskop bei 30° C. hielt (die Temperatur wurde mit Hilfe eines Vignal'schen Tischchens reguliert), so konnte man beobachten, daß die Enden der Fäden, anfangs vollkommen gerade, oder bloß schwach gekrümmt, nach einiger Zeit sich zusammendrehen, in Form einer korkzieherartigen Spirale oder Uhrfeder; des weiteren beginnen derartig zusammengedrehte Enden sich in Kokken von länglicher Form zu verteilen, wobei gleichzeitig eine Losdrehung der Spirale beobachtet wird. Infolgedessen



erhalten die Enden der Fäden die Form von sehr verschiedenartig gebogenen Ketten; zuweilen gelingt es, zu beobachten, daß die zusammengeboogenen Enden nach Beendigung der Sporenbildung noch



**Fig. 1.**



**Fig. 2.**

vollständig ihre Spiral- oder Uhrfederform bewahrt haben; in solchem Falle erhält man ein sehr hübsches Bild einer rosenkranzförmigen Spirale. Das Zusammendrehen der Formen kann man höchstwahrscheinlich durch das Hervortreten derselben aus der Flüssigkeit an die Luft erklären, aus welchem Grunde dieser Prozeß auch häufiger an den Rändern des Tropfens beobachtet wird, wo das Austrocknen der Flüssigkeit schneller vor sich geht. Auf einer der hier beigelegten mikrophotographischen Aufnahmen (Vergröß. 750mal) kann man sehen, wie die *Streptothrix*fäden auf die mannigfaltigste Art zusammengekehrt sind, wobei die Enden bald die Form eines Korkziehers, bald einer Uhrfeder zeigen, die rosenkranzartige Form der Drehung ist auf dem Bilde leider wenig bemerklich. Aeußerst selten beobachtet man einen solchen Fall, daß die Enden der Fäden Anschwellungen bilden. Bloß zwei Präparate unter allen meinen hängenden Tropfen zeigten mir eine derartige Bildung. Der eine Tropfen war aus Bouillon, der andere aus Mistjauche genommen, in dieselben war je ein Stückchen Mist gelegt worden, auf welchem vorher schon *Streptothrix* ausgesät war und darauf gedieh. Vor Beginn der Sporenbildung konnte man beobachten, wie die Enden vieler Fäden etwas anschwellen, wonach die Sporenbildung ihren Anfang nahm; dabei waren die 2—3 obersten Sporen merklich größer als die übrigen; von diesen 2—3 Sporen war die allergrößte die 1. (äußerste), die zweitfolgende war schon etwas kleiner und noch kleiner die 3.; die folgenden waren alle von gleicher Größe. Häufig konnte man in diesen Präparaten noch beobachten, daß auch die sehr kurzen Seitenäste etwas aufgeschwollen waren und im ganzen bloß aus einer einzigen Spore bestanden. Auf der zweiten photographischen Aufnahme sind die beschriebenen Anschwellungen deutlich zu sehen. Außer diesen Anschwellungen trafen sich in denselben Präparaten häufig auch die gewöhnlichen, geraden oder schwach gebogenen Kettenformen, während spiraliggedrehte und überhaupt stark gebogene Formen überhaupt nicht vorkommen. Worin die Ursache eines solch bedeutenden Unterschiedes in Präparaten, die alle aus ein und demselben Material und bei vollständig gleichen Verhältnissen zubereitet waren, liegt, das zu erforschen, kann als Aufgabe einer besonderen Untersuchung dienen. Die Bildung von Spiralen und Anschwellungen hat für mich natürlich bloß ein gelegentliches Interesse, für Forscher jedoch, welche sich speziell mit der Morphologie und Systematik der Gruppe der *Streptothriche*en beschäftigen, könnte meine Beobachtung jedenfalls zur Veranlassung dienen, die Entwicklung einiger Repräsentanten dieser Gruppe in einem solchen Medium, wie der Mist es ist, zu studieren, mit der Absicht, diese Anschwellungen künstlich hervorzurufen, ihre Natur zu ergründen und auf diese Art möglicherweise eine Analogie zwischen ihnen und den kolbenartigen Anschwellungen bei *Actinomyces* zu entdecken. Bei der Färbung dieser hängenden Tropfen nach Ziehl erscheint der Inhalt vieler Fäden auch hier in viele intensiv gefärbte Abteilungen zerlegt, ganz wie in der Bouillonkultur, mit anderen Worten, eine derartige Zusammensetzung der Fäden steht nicht im Zusammenhang mit der Sporenbildung, da dieselbe auch dort beobachtet wird, wo eine Sporenbildung überhaupt nicht stattfindet.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Morphologie der Blastomyceten.

[Aus dem Botanischen Institut der Kgl. Universität Catania.]

Von

Dr. O. Casagrandi.

(Fortsetzung.)

3) Die hauptsächlichsten Charaktere genannter Membran sind:

a) Ausbleiben der Cellulosereaktion bei Anwendung von jodhaltigen Reagentien; sei es nun, daß man diese direkt anwendet, oder nach vorheriger Behandlung mit Schwefelsäure oder alkoholischer oder wässriger Lösung von Kali oder Natron.

b) Löslichkeit lediglich in konzentrierter Chromsäure (ziemlich schnell) und konzentrierter Schwefelsäure (ziemlich langsam); Unlöslichkeit dagegen in jeder anderen Säure.

c) Unlöslichkeit im Schweizer'schen Reagens, auch wenn vorher eine Behandlung mit salzsaurem oder 2-proz. essigsäurem Alkohol stattgefunden hatte.

d) Schwierige Färbung in fast allen karmin- und anilinhaltigen Färbemitteln. Immerhin ist eine solche doch bei vielen von ihnen möglich, besonders beim Methylenblau (nach Ehrlich) und dem Hanstein'schen Anilin, zumal in der Wärme, wenn eine Behandlung mit 4—6-proz. salzsaurem Alkohol oder 2-proz. Essigsäure vorherging. Sehr häufig tritt auch eine Färbung mit Karbol-Safranin und Karbol-Fuchsin ein.

## II. Ueber die Granula der Blastomyceten.

Im Innern der Blastomyceten werden glänzende Granula beobachtet, welche schon mannigfach beschrieben und verschieden gedeutet worden sind. Im Folgenden will ich mitteilen, was für Resultate sich aus meinen morphologischen und mikrochemischen Untersuchungen ergeben haben:

### Morphologische Charaktere.

1) Aussehen, Gestalt, Größe. Die Granula, welche sich in den Blastomyceten finden, haben, in den jungen Zellen mit starken Vergrößerungen betrachtet, eine augenscheinlich eckige Gestalt, glänzendes Aussehen und zeigen manchmal, wenn sie sich innerhalb von Vakuolen befinden, eine Brown'sche Bewegung. Sie sind ferner von wenig bedeutender Größe, welche gewöhnlich kaum einige Zehntel von Mikron erreicht; in gewissen Fällen jedoch nehmen die Dimensionen zu, und dann wird auch ihre Gestalt allmählich weniger eckig und sie können geradezu rund werden. Sie bilden sich so in glänzende Tröpfchen um, deren Dimensionen bedeutend wachsen können, und welche das Bestreben haben, sich zu vereinigen, um schließlich nur

einen einzigen Tropfen zu bilden <sup>1)</sup>. Derartige Erscheinungen pflegen aufzutreten bei gealterten Blastomyceten oder bei solchen, welche in schlechte Lebensbedingungen geraten sind oder einer besonderen Behandlung unterworfen werden, wie ich sie gleich auseinandersetzen werde. Bei jungen Blastomyceten tritt so etwas nicht ein, die Granula bleiben im allgemeinen klein und eckig.

2) Anzahl. Die Anzahl dieser Granula ist verschieden. Es kommen Blastomyceten vor, welche sehr viel davon haben und wieder andere, welche nur wenig oder gar nur ein einziges besitzen. Es gilt indessen als allgemeine Regel, daß, wenn der Granula wenig an Zahl sind, sie dann ein wenig größer sind als in jenen Blastomyceten, welche viel davon beherbergen. Kommt also in ihnen nur ein einziges Granulum vor, so hat dies verhältnismäßig bedeutende Dimensionen.

Diese Granula können auch fehlen, dies beobachtet man jedoch nur in den Fermentzellen ganz junger Kolonien. Es steht dieser Umstand damit in Beziehung, daß die Granula nur in einem gewissen Alter der Zelle auftreten.

In der That, wenn man eine junge Kolonie im hängenden Tropfen beobachtet, so ist es die centrale Zelle, welche also die Mutterzelle der Kolonie ist, in der sie sich am ersten zeigen. Darauf folgen die übrigen gradatim vom Centrum aus bis zur Peripherie der Kolonie. Es sei indessen bemerkt, daß außer dem Alter der Zelle an dem Auftreten der Granula auch noch gewisse Nährstoffe Anteil haben, wie z. B. Lösungen von Milchzucker oder Rübenzucker von 20 Proz., wie sie Hieronymus (4) vorschlägt, die Lösungen von Ammoniumsalzen und ebenso auch gewisse besondere Lebensbedingungen, welche unter nicht gut definierten Umständen eintreten.

3) Anordnung. Was den Verteilungsmodus dieser Granula innerhalb des Protoplasmas der Blastomyceten anlangt, so konnte Hieronymus in Bezug auf den *Saccharomyces cerevisiae* konstatieren, daß dieser ein ganz eigenartiger ist, indem die Granula eins nach dem anderen folgen, so daß sie tauförmige oder knäulartig aufgewundene oder rosenkranzähnliche Reihen bilden, wobei sie noch die Fähigkeit besitzen, durch Spaltung ihrer Länge nach doppelt zu werden u. s. w. Diese Beobachtungen von Hieronymus konnten in der Folge nicht von Allen bestätigt werden. So berichtet Zimmermann (15) über Beobachtungen von Görtz, nach denen eine derartige besondere Anordnung der Granula nicht in so typischer Ausbildung wahrgenommen werden kann, wie es der Verf. angiebt. Ich kann nun in Bezug hierauf sagen, daß ich in einigen Fällen genau eine reihenförmige Anordnung der Granula beobachten konnte, welche einen einzigen Kreis um die größte Achse der Blastomycetenzelle beschreiben. In anderen Fällen konnte ich feststellen, daß die Reihe der Granula eine Spirallinie mit enger werdender Aufwindung bildete, welche sich in einer großen Anzahl von untereinander parallelen Windungen dicht an der Membran des Blastomyceten hinzog. Endlich

---

1) In diesen Fällen muß man Obacht geben, daß man sie nicht mit Sporen verwechselt, was einigen Forschern begegnet zu sein scheint, wie es Sanfelice anlässlich der Sporen mit Recht angiebt (Ann. Igiene sper. 1894).

konnte ich in noch anderen Fällen sehen, wie diese Granula kranzförmig an einer Stelle im Protoplasma angeordnet waren, gleichsam, als ob sie auf einer rundlichen, im frischen Zustande nicht sichtbaren Masse festgeheftet wären. Auf der anderen Seite muß ich es jedoch aussprechen, daß derartige Anordnungen sich nicht immer so regelmäßig und konstant gezeigt haben, ein Grund, weshalb ich mit Hieronymus in dem von ihm vorgeschlagenen Sinne nicht übereinstimmen kann.

4) Arten. Manche Autoren wollten auch unter den Granulis im Innern der Blastomyceten verschiedene Arten unterscheiden. So ist besonders Eisenschitz (16) als Vertreter einer solchen Unterscheidung hervorzuheben, von Anderen, wie Curtis u. s. w., ganz abgesehen.

Diese Forscher unterscheiden in den Blastomyceten zwei Arten von Granula: Reservegranula und Chromatingranula.

Meine mikroskopischen Untersuchungen veranlassen mich dazu, die Existenz dieser beiden Arten von Granula in Abrede zu stellen. Ihre Annahme wurde nur durch die unvollkommene Wirkung der Reagentien und durch andere Umstände veranlaßt, welche weiter unten auseinandergesetzt werden sollen.

### Mikrochemische Charaktere.

In Bezug auf die Art und Weise, wie sich die Granula der Blastomyceten gegen verschiedene Reagentien verhalten, muß man zugeben, daß es bis zu einem gewissen Grade berechtigt erscheinen könnte, ihnen eine verschiedene Deutung, wie Chromatinkörnchen, Fettkörper, Krystalloide u. s. w., zu geben.

Aus meinen Untersuchungen ergibt sich aber Folgendes:

#### 1. Behandlung mit Färbemitteln.

Die Granula der Blastomyceten färben sich, so lange sie in den Kulturen leben, mit verschiedenen Anilinfarben, und zwar besonders mit essigsaurem Methylgrün. Nach ihrem Absterben färben sie sich mit saurem Fuchsin nach wiederholtem Aufkochen und entfärben sich dann wieder mit Essigsäure nach der Methode von Möller (17); sie färben sich mit Karbol-Diamant-Fuchsin, besonders wenn sie durch die Wirkung irgend eines Reagens zu Tröpfchen reduziert sind; sie färben sich in ganz gleicher Weise in einer wässerig-alkoholischen Lösung von Safranin, mit Methylenblau nach Ehrlich, Loeffler oder in wässerig-alkoholischer Lösung; je nach der vorhergehenden Behandlung können sie recht häufig, auch bei Anwendung derselben Färbemittel, ganz verschiedene Farbentöne annehmen. Sie färben sich auch grün mit einer Lösung von Malachitgrün und Safranin nach Sanfelice, wenn die Lösung lange Zeit in der feuchten Kammer einwirkt; ziegelrot färben sie sich mit Jodgrün und Fuchsin nach Strasburger; sie färben sich mit dem Schneider'schen Karmin, nach vorhergegangener Fixierung mit Chromsäure nach der Methode von Hieronymus, die Färbung ist aber kaum wahrnehmbar, u. s. w. Im ganzen genommen färben sie sich also mit den verschiedensten

**Färbelösungen**, wie es von allen denen beobachtet wurde, welche sich mit der Untersuchung dieser Granula beschäftigt haben. Und es ist die Beobachtung von Eisenschitz, daß gewisse Granula sich früher färben, andere später, und daß die zuerst und isoliert gefärbten aus Nukleinsubstanz bestehen sollen, die anderen nicht, ohne jede Bedeutung. Die Granula der Blastomyceten färben sich alle, im allgemeinen die großen, runden, im Plasma zerstreuten, schneller als die kleinen eckigen, die alten schneller als die jungen, und die in der Peripherie gelegenen schneller als die centralen; aber dies spricht in keiner Weise zu Gunsten von Nukleingranula oder anderen, und zwar um so weniger, als man, wie die Thatsachen lehren, den physischen Zustand der Granula selbst und der Plasmahülle, welche diese umgiebt, in Rechnung ziehen muß.

## 2. Behandlung mit verschiedenen Lösungsmitteln.

Bei der Behandlung mit den mannigfachsten Lösungsmitteln, wie absolutem Alkohol, Aether, Chloroform, Chloroform und Aether zu gleichen Teilen, konzentrierten alkoholischen Lösungen von Kali und Natron, Petroleumäther, Schwefelkohlenstoff, lösen sich die Granula der Blastomyceten auf, und die Lösung tritt noch leichter ein, wenn die Granula vorher (durch eine Säure oder durch Verdauung mit salzsaurem Pepsin, oder in anderer Weise) in Tröpfchen umgewandelt waren.

Es muß indessen bemerkt werden, daß diese Lösung nicht plötzlich eintritt, und oft ist es nötig, tagelang zu warten. Das sie aber eintritt, läßt sich nicht in Abrede stellen; man hat nur nötig, Blastomycetenzellen zu beobachten, nachdem Schwefelkohlenstoff auf sie eingewirkt hatte. Man findet dann häufig alsbald die Granula in förmliche Oelblasen umgewandelt, während eine gewisse Menge von Oeltröpfchen sich frei im Gesichtsfelde des Mikroskopes vorfindet. Bringt man ferner unter das Mikroskop ein Präparat mit Blastomycetenzellen, welches längere Zeit mit absolutem (im wahren Sinne des Wortes) Alkohol behandelt wurde, so kann man an den Stellen, wo die Granula lagen, nicht selten ebensoviele Nischen antreffen, in denen von dem glänzenden Körperchen, welches früher darin lag, nicht mehr eine Spur anzutreffen ist. Das Protoplasma erscheint in diesen Fällen wie ganz mit Höckern besetzt. Auch mit konzentrierter alkoholischer Soda kann man dieses Resultat erhalten.

Ich muß aber zu wiederholtem Male bemerken, daß man, um eine solche Lösung zu erreichen, Geduld haben muß. Von diesem Gesichtspunkte aus hat die Angabe von Curtis, daß die großen Granula seines Blastomyceten sich nicht in Aether und Benzin lösten, keine Bedeutung, fügt doch der Verf. selbst hinzu, daß sie sich darin in 24 Stunden nicht lösten; offenbar war eben diese Zeit im vorliegenden Falle nicht ausreichend. Will dagegen, welcher sich bei seinen Untersuchungen nicht mit einer Wartezeit von 24 Stunden begnügte, konnte zu dem Schlusse kommen, daß man in absolutem Alkohol eine Lösung erhält; Will wartete sogar wochenlang, um die Lösung zu erhalten. Was für eine tiefere Ursache diesem Widerstand zu Grunde liegt, werde ich später auseinandersetzen.

Ich kann auch keinen Unterschied zwischen widerstandsfähigeren und weniger widerstandsfähigen Granula machen, wie es **E i s e n s c h i t z** möchte, weil ich immer gesehen habe, daß sich alle Granula auflösen. Es ist dies nur eine Frage der Geduld, und es gelingt Zellen zu erhalten, welche vollkommen frei von Granula sind, ein Resultat welches man durch Ausziehen mit absolutem Alkohol, Aether und Chloroform erhält. Ich komme übrigens später noch einmal auf diese Frage zurück.

### 3. Behandlung mit verschiedenen Säuren.

Die Granula der Blastomyceten widerstehen den Säuren recht gut, selbst wenn diese in konzentrierter Lösung einwirken. Indessen bleiben sie dabei doch nicht so, wie man sie in jungen Blastomyceten beobachtet, sie zeigen nämlich das Bestreben, sich in glänzende Tröpfchen umzuwandeln, welche sich zur Bildung größerer vereinigen. Während dessen hellt sich das Protoplasma stark auf, so daß die Granula sich sehr gut durch ihr ausgesprochenes Lichtbrechungsvermögen abheben. Je nach den Säuren, welche zur Anwendung gelangen, kann man an den Granulis eine leichte Färbung wahrnehmen. So beobachtet man bei Anwendung von Salpetersäure eine leichte gelbliche Färbung, von Schwefelsäure eine gründliche Färbung, welche nach längerer Zeit in das Bräunliche ziehen kann, und so fort. In dieser Beziehung ist die bräunliche Färbung, welche man mit 1-proz. Osmiumsäure erhält, von großer Wichtigkeit. Diese Färbung wird, wenigstens bis zu einem gewissen Punkte, um so intensiver, je länger man die Säure einwirken läßt.

Auch hier, in Bezug auf die Behandlung mit Säuren, gilt, daß ohne Ausnahme alle Granula sich in glänzende Tröpfchen umwandeln, vorausgesetzt, daß man so lange wartet, bis die Säure auf alle eingewirkt hat. Ich lasse zu diesem Zwecke die Fermente 1—7 Tage in der 6-proz. Salzsäure oder Schwefelsäure verweilen, das Gleiche gilt für die 2-proz. Essigsäure u. s. w.

### 4. Behandlung mit Alkalien.

Auch bei der Behandlung mit Alkalien verwandeln sich die Granula der Blastomyceten in Tröpfchen, ebenso wie bei der Anwendung von Säuren. Ist das verwendete Alkali eine wässrige Lösung von Kali oder Natron, so verleiht es den Tröpfchen bisweilen eine leicht gelbliche Färbung, eine Erscheinung, welche **Will**, ich weiß nicht aus welchem Grunde, lediglich der Wirkung von 10-proz. Kali zuschreibt. Wenn das zur Verwendung gelangte Alkali Ammoniak ist, so nehmen die Granula, soweit ich es konstatieren konnte, keine besondere Färbung an, obgleich **Will** von einer orangefarbenen Färbung spricht.

### 5. Behandlung mit verschiedenen Reagentien.

Behandelt man die Granula der Blastomyceten mit verschiedenen Reagentien, z. B. mit jodhaltigen, mit denjenigen von **Schweizer**, **Millon**, **Raspail**, so verhalten sie sich folgendermaßen:

a) Mit jodhaltigen Reagentien nehmen sie eine dunkel-

gelbe Farbe an, durch welche sie sich von dem gelben Grunde des Protoplasmas abheben, und welche sehr deutlich wird, wenn die Blastomyceten vorher mit irgend einer verdünnten Säure behandelt worden waren, so daß die Granula in wahre und richtige Tröpfchen umgewandelt worden waren. Besonders intensiv ist die Färbung der Granula mit Jodtinktur, viel stärker als mit Chlorzinkjod, und diese wird geradezu braungelb, wenn man einen Strom von Schwefelsäure durch das Präparat leitet.

b) Durch das Schweizer'sche Reagens erhält man nur eine Umwandlung der Granula in Tröpfchen. Das Gleiche gilt für das Millon'sche und Raspail'sche Reagens. Ich wenigstens konnte bei dem ersten von den beiden letzteren nichts von irgend einer ziegelroten Färbung entdecken, ebensowenig wie eine Rosafärbung mit dem letzteren, was Will dagegen beobachtet haben will.

c) Mit künstlichem Magensaft, anhaltendem Kochen, Maceration nach Schultze erhält man gleichfalls nichts anderes, als die Umwandlung in Tröpfchen. Ganz besonders ist zu diesem Zwecke die künstliche Verdauung zu empfehlen. Ich will aber hierzu bemerken, daß Eisenschitz nicht mit Recht auf sie seine Ansicht gründet, daß die Granula aus Nukleinsubstanz beständen, weil bei der Behandlung mit dem Verdauungssafte die Granula, welche sich an der Peripherie der Zelle befinden, ungelöst und färbbar blieben. Ich habe stets nach den Versuchen mit künstlicher Verdauung die Zellen mehr oder minder reich an Granula gesehen, ohne daß man zwischen peripherischen und nicht peripherischen unterscheiden konnte, weil nämlich alle Granula in glänzende Tröpfchen verwandelt worden waren. Im übrigen können auch andere Gebilde, wie Zimmermann (18) mit Recht bemerkt, dasselbe Verhalten aufweisen, ohne darum aus Nukleinsubstanz zu bestehen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über den Wurzelschimmel der Reben.

Von

Dr. J. Behrens.

(Fortsetzung.)

Das bestätigte sich denn auch. Der Pilz wächst in üppigen Mycelien auf allen möglichen Hölzern (Eichen, Robinien, Pappeln und Weiden, Tannen), am weitaus schnellsten und üppigsten allerdings auf Rebholz<sup>1)</sup>. Ich lasse es dahingestellt, ob das auf der physikalischen und chemischen Beschaffenheit des Rebenholzes an sich beruht oder auf eine spezifische Anpassung des Pilzes an die Rebe während seines bisherigen Lebens zurückgeführt werden muß. Das Holz wird dabei, wie es Hartig von der Dematophora-Fäule der Rebenwurzeln beschreibt, zersetzt, braun gefärbt, mürbe und brüchig.

1) Natürlich waren die Hölzer sterilisiert, die Kulturen Reinkulturen.



In den Gefäßen verlaufen mehr oder weniger zahlreiche Pilzfäden, die stellenweise die Wände durchbohren und in die Holzzellen eindringen. Die sekundären Verdickungsschichten der Gefäßwände und der Holzparenchym- und Markstrahlzellen werden gelöst. Ebenso werden im Rindenparenchym die Zellwände nach allen Richtungen hin vom Pilz durchbohrt und endlich gänzlich aufgezehrt. Das weist darauf hin, daß der Pilz eine besonders ausgebildete Fähigkeit besitzt, Cellulose zu lösen. In welcher Weise das geschieht, das war die erste Frage, die ich zu lösen suchte.

Schon ein erster Versuch zeigte, daß die *Pseudo-Dematophora* auf einer sterilisierten Lösung von 1 g salpetersaurem Ammon, 0,5 g Kaliumphosphat und 0,25 g Magnesiumsulfat in 100 ccm Wasser, der als einziger organischer Nährstoff 5 g gereinigtes schwedisches Filtrierpapier<sup>1)</sup> zugesetzt waren, aufs üppigste gedieh, wenn etwas Mycel auf das Papier übertragen wurde. Es ist also keine Frage, daß der Pilz bei alleiniger Ernährung damit seinen Kohlenstoffbedarf aus reiner Cellulose decken kann. Er muß demnach die Fähigkeit haben, diese in Lösung überzuführen, da sie im ungelösten Zustande ja natürlich in die Pilzzellen nicht aufgenommen werden kann. Das Lösungsprodukt der echten Cellulose, das wir künstlich durch Hydrolyse mit Säuren erzeugen können, ist die Dextrose, deren polymerisiertes Anhydrid sie bildet. Es liegt die Vermutung nahe, daß auch unser Pilz die Cellulose vor ihrer Aufnahme und Verarbeitung hydrolysiert, und daß dieses geschieht durch das viel gesuchte Celluloseferment. Allerdings zeigte, als eine Reihe von Cellulosekulturen der *Pseudo-Dematophora* angelegt wurde, zu keiner Zeit eine der Flüssigkeiten Zuckerreaktion mit Fehling's Lösung. Daß das aber jedenfalls nur darauf zurückzuführen war, daß der Pilz bei seinem lebhaften Wachstum und zu Atmungszwecken die gebildete Dextrose sofort wieder verbraucht, zeigt der folgende Versuch: Am 31. Mai wurde Mycel aus einer Cellulosekultur des Pilzes, in der Zucker nicht nachzuweisen war, mit frischem reinem Filtrierpapier in Chloroformwasser suspendiert und das Ganze sich selbst bei Zimmertemperatur überlassen. Nach 24 Stunden wurde die Flüssigkeit filtriert, das Chloroform durch Eindampfen unter Sodazusatz auf dem Wasserbade verjagt und der Rückstand wieder mit Wasser aufgenommen. Die so erhaltene Lösung ergab eine deutliche und unverkennbare Zuckerreaktion, als sie mit Fehling's Lösung erhitzt wurde. Daß wir es hier mit einer Fermentwirkung zu thun haben, ist schon an sich wahrscheinlich, wird aber außer Zweifel gesetzt durch das nachstehende Experiment: In zwei Kolben wird die gleiche Menge Filtrierpapier in je 100 ccm Chloroformwasser suspendiert und beide mit möglichst gleichen Portionen einer Papierkultur des Pilzes versetzt. Der Kolben I wird zur Zerstörung des vermuteten Cellulosefermentes sofort im Koch'schen Dampfkochtopf auf 100° erhitzt, dann erkalten gelassen und im übrigen wie Kolben II bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach 24 Stunden werden die Filtrate beider Flüssig-

1) Mit Salz- und Flußsäure ausgezogene Filter aus der Fabrik von Schleicher und Schüll in Düren.

keiten wieder bis zur Trockene verdampft und die wässerigen Lösungen der Rückstände auf ihr Reduktionsvermögen geprüft. Nur im Kolben II war Hydrolyse der Cellulose und Zuckerbildung eingetreten.

Damit glaube ich das Vorkommen eines Cellulose lösenden und verzuckernden Fermentes bei unserem Pilz, wenn auch nicht ganz sicher bewiesen, so doch sehr wahrscheinlich gemacht zu haben. Möglich wäre freilich, daß das gereinigte schwedische Filtrierpapier, wie es zur quantitativen Analyse benutzt wird, neben echter Cellulose, die jedenfalls die Hauptmasse bildet, noch geringe Mengen leichter hydrolysierbarer Hemicellulosen oder Hydrocellulose enthält, und daß auf das Vorkommen dieser Stoffe die Zuckerbildung in meinen Versuchen zurückzuführen ist. Mir erscheint das unwahrscheinlich.

Das Celluloseferment ist aber nicht das einzige Ferment, das die Pseudo-Dematophora bildet. Zunächst überzeugt man sich an Gelatinekulturen leicht, daß der Pilz Gelatine verflüssigt, also ein peptonisierendes oder trypsinartiges Ferment bildet. Er löst ferner Kartoffelstärke, wie schon sein Gedeihen auf Stärke mit Ammonitrat und Aschenbestandteilen lehrt. Auch hier gelang es mir allerdings nie, in den Kulturen mehr als höchstens Spuren reduzierender Kohlehydrate zu finden. Als jedoch Mycel von Stärkekulturen in Stärkelösung gebracht wurde, wobei Chloroformzusatz das Pilzwachstum verhinderte, reduzierte die Lösung des Verdampfungsrückstandes vom Filtrat sehr stark. Auf dieselbe Weise wurde im Mycel, das auf einer Rohrzuckerlösung gewachsen war, Invertin nachgewiesen. Und endlich bildet der Pilz auch Emulsin. Auf einer Salicinlösung mit den entsprechenden Nährsalzen gedeiht er allerdings nicht so üppig, wie auf einer entsprechend konzentrierten Rohrzuckerlösung. Besonders fällt im Vergleich zur letzteren die reichliche Entwicklung des Luftmycels gegenüber der spärlichen Entwicklung der untergetauchten Mycelpartien auf. Es liegt das wohl an einer spezifischen Wirkung des einen Spaltungsproduktes, des Salicylalkohols, der nach 14-tägiger Kultur an dem untergetauchten Mycel in Form glänzender Rhomboëder, makroskopisch sichtbar, sich zum Teil ausgeschieden hatte. Auch Cellulosekulturen des Pilzes enthalten Emulsin. Als in eine 1-proz. Salicinlösung in Chloroformwasser Teile einer solchen Kultur gebracht waren, ließ sich nach 24 Stunden in der Flüssigkeit der Salicylalkohol durch seine Blaufärbung mit Eisenchlorid leicht nachweisen. Der Verdampfungsrückstand gab die Zuckerreaktion.

Die Fähigkeit des Pilzes, Zersetzungen hervorzurufen, ist also eine sehr vielseitige. Er übertrifft darin jedenfalls alle bisher untersuchten Formen, selbst das so vielseitige *Penicillium glaucum*, dem nach anderweitigen Untersuchungen jedenfalls das Vermögen fehlt, Cellulose in Lösung zu bringen. Gerade diese Eigenschaft, ein die Cellulose hydrolisierendes Enzym zu bilden, läßt aber andererseits den Pilz sehr geeignet zu parasitischen Angriffen erscheinen, so daß ich ursprünglich mich allerdings der Auffassung zuneigte, in dem Pilze, wenn auch nicht den eigentlichen „Wurzelschimmel“, so doch einen ähnlichen Parasiten der Rebe vor mir zu haben. Dafür schien auch sein besonders üppiges Gedeihen auf totem Rebholze zu sprechen.

Die Infektionsversuche mit unserer *Pseudodematophora*

gingen aber ausnahmslos negativ aus, sowohl bei Reben wie bei anderen Kulturpflanzen. Zunächst versuchte ich an Kressekeimlingen seine verderblichen Eigenschaften. Auf keine Weise, weder direkt noch bei üppiger Ernährung des Pilzes durch Traubenmost, gelang es, ihn zum Eindringen in die Keimlinge oder überhaupt nur zur Vernichtung derselben zu bewegen. Kartoffeln, die durch Abbürsten, Waschen in Sublimat und sterilisiertem Wasser von Pilzkeimen möglichst befreit waren, blieben 2 Monate lang unverletzt und erzeugten üppige Keime und Wurzeln in den Behältern, die mit sterilisiertem Filtrierpapier ausgekleidet waren. Dabei war das Mycel des Pilzes teilweise auf die unverletzte Korkhaut, teilweise auf Hautwunden gebracht und zum Teil auch noch durch einen Tropfen Most für die Möglichkeit saprophytischer Anzucht gesorgt. Zu jedem Versuche dienten drei Kartoffeln der Sorte: rote Maus. Nirgends erfolgte ein Eindringen des Pilzes auch nur in die Kartoffel selbst, noch viel weniger natürlich in die neugebildeten Sprosse und Wurzeln. Endlich wurden auch Rebstecklinge mit Stücken einer Cellulosekultur des Pilzes in einem feuchten Raume eingeschlossen. Die Stecklinge, die im Wasser standen, trieben wie im Kontrollversuche recht lebhaft aus und bewurzelten sich reichlich. Der Pilz machte keine Fortschritte. Erst nachdem die Stecklinge schließlich in den ungünstigen Lebensbedingungen abgestorben waren, wucherte er üppig auf ihren Leichen. Zufällig überlebten aber sogar die infizierten Stecklinge die nicht infizierten des Kontrollversuchs um mehr als einen Monat. Damit ist meiner Ansicht nach der Beweis geliefert, daß er am Eingehen der Reben an den Wurzelschimmelstellen unschuldig ist. Jedenfalls aber ist er sicherlich hervorragend beteiligt einmal an der weiteren Zerstörung der durch andere Umstände getöteten Rebenwurzeln und Rebenstämme und ferner an der wirtschaftlich recht einschneidenden Fäulnis der Rebpfähle.

Für seine allgemeine Verbreitung spricht, daß ich ihn in allen Fällen nachweisen resp. isolieren konnte, wo mir wurzelschimmelkranke Reben vorlagen. Das waren nicht nur verschiedene Vorkommen, die aus dem Bodenseegebiet stammten, von wo Hartig seinerzeit schon das Material zu seinen Studien bezogen hatte, sondern auch solche aus der Umgegend von Waldshut. Auch von einigen aus der Umgegend von Müllheim (Markgräfler Land) stammenden toten Reben ließ er sich auf dem oben beschriebenen Wege isolieren. Nebenbei bildet dieser letztere Umstand einen interessanten Beweis für die Lebensfähigkeit des Pilzes. Die betreffenden Reben sind nämlich im Jahre 1884 dem Boden entnommen und seither in einem größeren bedeckten Glascylinder sich selbst überlassen. Bis zum Jahre 1890, wo ich die Kulturen zum erstenmale sah, waren sie hin und wieder mit Wasser versorgt worden, trockneten dann aber allmählich aus. Als 1896 von neuem für die nötige Feuchtigkeit gesorgt wurde, erschienen aber bald die Rhizoctonien und Watten des Wurzelschimmels wieder auf dem mürben und brüchigen Holze, und aus ihnen wurde die *Pseudomematophora* mit Leichtigkeit gezüchtet.

Im Anschlusse daran möchte ich übrigens meine Bedenken nicht verhehlen, ob der Wurzelschimmel an sich schon zur Erzeugung der Wurzelfäule des Rebstocks genügt. Nach meinen Erfahrungen gehört

der Wurzelschimmel geradezu vor allen anderen zu jenen Pilzen, bei denen eine hochgradige Disposition der Nährpflanze zur Erkrankung vorhanden sein muß, um sie angriffsfähig zu machen. Er wird nur schädlich in schwerem, nassem Boden, an quelligen Stellen u. dergl., die an und für sich schon nichts weniger als die geeignetsten Plätze für Reben sind. In trockenen Jahren, z. B. 1892, 1893 und 1895 war selbst an notorisch vom Wurzelschimmel verseuchten Stellen von einem Zurückgehen der Reben nichts zu sehen. Stöcke, die im Jahre vorher sicher krank gefunden worden waren, zeigten keine Spur von Erkrankung. Erst das nächste niederschlagsreichere Jahr ließ die Reben wieder krank erscheinen. Die „Wurzelfäule“ der Reben steht also schon nach diesen oberflächlichen Beobachtungen als eine etwas zweifelhafte Pilzkrankheit da, und diese Auffassung wird auch durch Beobachtungen im Laboratorium nicht abgeschwächt.

Ende Januar wurden Samen von *Phaseolus vulgaris*, einer nach Hartig's Mitteilungen gegen den Wurzelschimmel sehr empfindlichen Pflanze, eingequellt und dann in Blumentöpfe verteilt. Jeder Topf erhielt 6 Samen. Topf I war mit gewöhnlicher Gartenerde gefüllt, in Topf II, III und IV war die Erde vermischt mit zahlreichen Bruchstücken wurzelschimmelkranker Reben. Alle 4 Töpfe kommen nebeneinander in einen Zinkuntersatz, der mit Wasser gefüllt wird, um die Erde immer recht feucht zu erhalten, und werden mit einer großen Glasglocke bedeckt. Um einen geringen Luftwechsel zu ermöglichen und besonders eine zu starke Erhitzung der eingeschlossenen Luft im direkten Sonnenlicht<sup>1)</sup> zu verhüten, wurde durch Unterschieben von Holzklötzen für einen Spalt zwischen Glockenrand und Unterlage gesorgt. Jedenfalls waren die Verhältnisse für eine Infektion durch den Wurzelschimmel so günstig wie möglich. Diese trat indes nirgends ein. Dagegen wurde ein Teil der Keimlinge von der omnivoren *Botrytis* befallen und zerstört, aber natürlich ziemlich gleichmäßig in allen 4 Töpfen. Mitte Februar besaß Topf I 3 gesunde Keimpflanzen, die anderen waren, zum Teil gleich nach der Keimung, von *Botrytis* zerstört. In Topf II waren indessen noch 2, in Topf III 3, in Topf IV wieder 2 gesunde Keimlinge vorhanden. Später wurde auch von diesen gesunden Keimlingen noch ein Teil zerstört, indem *Botrytis* von den welkenden Keimblättern aus die Triebspitze ergriff und zerstörte. Die übrigen entwickelten sich trotz des auf dem Rebholz wuchernden Mycels gesund weiter, bis die Mäuse Anfang März Gefallen an den saftigen Pflanzen fanden und sie abfraßen. — Im September 1896 brachte ich einige Wurzelstöcke erkrankter Reben (vom Bodensee stammend) in einen Glaszylinder, dessen Boden mit wenig Wasser bedeckt, und der oben durch eine aufgelegte Glasplatte verschlossen wurde. Während des ganzen Winters wuchs der Wurzelschimmel in Form von Watten und Rhizomien üppig an den Rebteilen und an der Gefäßwand, und doch fand ich am 6. Juni dieses Jahres einen trotz der schwachen Beleuchtung, die am Aufbewahrungsort herrscht, üppig gewachsenen, schön grünen Trieb mit 3 entfalteten Blättern. Der Stamm dieses Triebes ist dabei

1) Die Pflanzen standen vor einem Ostfenster des geheizten Zimmers.

ganz umspinnen von Mycelwatte, wie auch seine Ursprungsstelle vom Wurzelschimmel in Form von Watten und Rhizoctonien dicht übersponnen ist. Natürlich stirbt der Trieb später unter den ungünstigen Lebensverhältnissen ab. Am 23. Juni ist seine Endknospe schwarz und tot, aber, wie ich noch besonders hervorheben möchte, nicht von dem den Stengel umspinnenden Mycel getötet. — Mitte März wurde ein mehrjähriger, von der Borke befreiter und gut gewaschener Zweig von *Vitis labrusca* in einem feuchten Raume aufgehängt und, nachdem eine Spur einer Rhizoctonie auf die obere Schnittfläche gebracht war, das Ganze in den Dunkelschrank gestellt. Der Pilz wuchs weiter und bekleidete nach einiger Zeit das ganze Zweigstück bis zu seiner Basis, an der die Ursprungsstelle eines abgeschnittenen Seitenzweiges sich befindet, mit schönen Rhizoctonien. Trotzdem entstand hier ein üppiger Seitentrieb und eine Anzahl von Wurzeln. Ersterer, der natürlich etioliert war, starb selbstverständlich bald ab, ein Stumpf von ihm ist aber heute, am 8. Juli, noch lebendig. Zahlreiche Wurzeln entspringen am basalen Ende des Zweiges, und eine davon, die ganz bekleidet ist vom Pilze, ist heute noch ebenso gesund wie vor 14 Tagen.

Nun ist es allerdings nicht unmöglich, nicht einmal unwahrscheinlich, daß mir bei meinen wurzelkranken Reben gar nicht dieselbe Erkrankung vorgelegen hat wie seiner Zeit Hartig. Konnte ich doch die echte *Dematophora necatrix* Rob. Hartig an meinem Materiale in keinem Falle finden<sup>1)</sup>. Jedenfalls beweisen aber die mitgeteilten Erfahrungen, daß man ohne genauere Untersuchung nicht jede Wurzelerkrankung der Reben, bei denen Rhizoctonien und wattenähnliches Mycel auf der Oberfläche von Wurzeln und Holz kriechen, für „Wurzelschimmel“ erklären darf, wie es meistens geschieht. Unter „Wurzelschimmel“ versteht man eben die durch *Dematophora necatrix* erzeugte Krankheitsform. Uebrigens ist vielleicht auch das Pilzgemeinde, das in den mir vorliegenden Fällen die Rebwurzeln überzog und das tote Holz sowie auch die Umgebung der Wurzeln durchwucherte, wobei es besonders in altem Miste üppig gediehen war, obgleich an sich und direkt nicht pathogen, doch an dem Erkranken des Rebstockes nicht ganz unschuldig. Stellen wir uns nur vor, wie durch den Pilz die Erde in der Umgebung der Wurzeln physikalisch und chemisch verändert wird, wie er den Boden mit seinen Stoffwechselprodukten durchsetzt. Gedeihen doch auch Topfpflanzen in schimmelndem Boden nicht! Schon der Verbrauch des Sauerstoffs durch den lebhaft wachsenden Pilz, die dadurch hervorgerufene Verschlechterung der Bodenluft und ihre Anreicherung an Kohlensäure muß sehr schädlich auf die Rebenwurzeln wirken. Der Pilz, speziell die von mir isolierte *Pseudodematophora*, kann auch noch mit recht geringfügigen Sauerstoffspannungen, bei denen die Wurzeln unserer Kulturpflanzen sicherlich schon leiden, auskommen, wie ich mich durch den Versuch überzeuge. Eine derartige Schädi-

1) An dem aus dem Jahre 1884 stammenden Materiale sind allerdings seiner Zeit, wie mir von durchaus glaubwürdiger Seite versichert wurde, Konidienträger der *Dematophora* vorhanden gewesen.

gung war bei meinen Versuchen ausgeschlossen, ihre Möglichkeit in den natürlichen Verhältnissen leuchtet aber wohl ohne weiteres ein.

Nicht nur wegen dieser Möglichkeit, sondern auch aus einem anderen Grunde möchte ich doch noch zurückkommen auf das Verhalten der isolierten *Pseudodematophora* gegenüber einigen Mitteln, die man zu verschiedenen Zeiten gegen den Wurzelschimmel der Reben empfohlen hat. Die diesbezüglichen Versuche wurden allerdings größtenteils schon eingeleitet gleich nach der vollzogenen Reinkultur des Pilzes, als ich mich der sanguinischen Hoffnung hingab, daß mir jetzt endlich die Isolierung der echten *Dematophora Hartig's* geglückt sei. Der Hauptgrund, weshalb ich die Resultate trotz der nachfolgenden Enttäuschung für der Mitteilung wert halte, ist der Wunsch, an einem konkreten Beispiele zu zeigen, wie sehr man sich zu hüten hat, an die Allmacht der üblichen „fungiciden“ Substanzen gegenüber allen Pilzschädigungen zu glauben, und ich denke dabei besonders an die Kupfermittel, die, seit sie sich gegen die *Peronospora* so gut bewährt haben, vielfach als ein Universalmittel gegen alle Pflanzenkrankheiten betrachtet werden. Habe ich doch einmal sogar Hopfen gegen Rußtau mit Kupferkalkmischung bespritzt gesehen, natürlich erfolglos!

Die Substanzen, deren Wirkung auf das Wachstum der *Pseudodematophora* ich etwas näher zu prüfen Gelegenheit nahm, sind Eisenvitriol, Kupfervitriol, Kaliumsulfokarbonat und Fluornatrium sowie Schwefelkohlenstoff. Die Anwendung des Eisenvitriols gegen den Wurzelschimmel steht jedenfalls im Zusammenhange mit der durch Sachs allgemeiner bekannt gewordenen günstigen Wirkung desselben in Fällen von Gelbsucht. Ist doch das Auftreten der Gelbsucht eines der Symptome, an denen man auch die wurzelschimmelkranken Reben erkennt. Die Anwendung wurde, soweit ich unterrichtet bin, empfohlen von Beinling, der über das Ergebnis sehr günstig berichtet. „Je 4000—5000 Rebstöcke wurden mit je 120—200 g Eisenvitriol (technisch reines) im Herbste 1890 gedüngt; im August 1891 zeigten die sehr heruntergekommenen Stöcke freudiges Wachstum gegenüber den nicht mit Eisenvitriol behandelten, vom Wurzelschimmel befallenen Reben; bei näherer Untersuchung zeigten sich zahlreiche junge Faserwurzeln“<sup>1)</sup>. (Schluß folgt.)

---

1) Beinling, Ueber das Auftreten von Rebenkrankheiten im Großherzogtum Baden im Jahre 1891. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. II. 1892. p. 208.)

## Untersuchungen über Kartoffelkrankheiten.

### 1. Einige Knollen-Infektionsversuche mit *Phytophthora*.

Von

Dr. C. Wehmer.

Der zwingende Beweis, daß die als „Braunfleckigkeit“ oder „Fleckenkrankheit“<sup>1)</sup> sich äußernde Erkrankung der Knollen durch den Krautfäule-Pilz verursacht werde, ist bislang nicht erbracht. Allerdings nimmt man diese Thatsache zur Zeit als feststehend an, nachdem sie zuerst von Speerschneider<sup>2)</sup> in den 50er Jahren — gestützt auf wenig vollkommene und nur kurz mitgeteilte Versuche sowie ziemlich zweideutige Resultate — ausgesprochen wurde. Jene, kurz darauf allerdings von Hoffmann<sup>3)</sup> bestätigten, Versuche sind aber schon bald nachher durch von Holle<sup>4)</sup> ins rechte Licht gesetzt und von Holle war offenkundig der einzige von diesen drei, welcher die Krankheit wirklich kannte. Was später an Experimenten hinzugekommen, hat wesentlich neues Material nicht gebracht, denn zumal darf die Infektion nicht mit freiliegenden oder gar angeschnittenen Knollen im feuchten Raume (wo sie immerhin gelingt) versucht werden. Der Erfolg in diesem Falle sagt wenig für die Verhältnisse im Freien (und die hier auftretende Krankheit), wo noch Umstände anderer Art hinzukommen, aus. Der künstlich angeordnete Versuch muß diese Verhältnisse innehalten, und vor allem auch wirklich dieselbe Krankheit erzeugen. Trotzdem letzteres selbstverständlich, ist es grade von den zwei Obengenannten übersehen.

Ohne mich von vornherein zu der einen oder anderen Ansicht bekennd, teile ich hier — wie ich meine vorurteilslos — zunächst einige im letzten Herbst angestellte Versuche mit, zu denen einige in größere Töpfe gepflanzte Kartoffelsorten Verwendung fanden. Der Versuchsausfall war — wie vorausgeschickt werden mag — vollständig negativ. Ob das an den besonderen Bedingungen gelegen, ist zunächst belanglos, jedenfalls zeigt die Thatsache, daß naßgelegene und mehrere Wochen mit gänzlich *Phytophthora*-krankem Laub in Berührung stehende gesunde Knollen keineswegs ohne weiteres „angesteckt“ werden, sondern vollständig gesund bleiben können. Wir werden also mindestens die heute gültige Ansicht durch einige Klauseln so oder so wesentlich einzuschränken haben; der Pilz allein — auch wo er gleichzeitig üppig auf dem Laube vegetiert und somit wohl im allgemeinen die richtigen Entwicklungsbedingungen vorliegen

1) Es scheinen mir diese Bezeichnungen der sonst üblichen („Trockenfäule“) aus mehreren Gründen vorzuziehen. Letztere wähle ich speciell für die durch *Fusarium* bewirkte Zersetzung, bei der thatsächlich ein Eintrocknen („Trockenwerden“) der an der Luft liegenden Knolle stattfindet. Das entspricht auch dem neuerdings üblichen Brauch.

2) Botan. Zeitg. 1857. p. 121 u. f.

3) Botan. Zeitg. 1860. p. 53.

4) Botan. Zeitg. 1858. p. 36 u. f. Die Holle'sche exakte Arbeit ist thatsächlich spurlos vorübergegangen.

dürften — thut es nicht. Daß übrigens vereinzelt darstehende Versuche immerhin mit einiger Vorsicht zu allgemeinen Schlüssen zu verwenden sind, braucht kaum bemerkt zu werden.

**Versuchsanordnung.** Zwei große Steingutöpfe (sog. Blumentöpfe) die mit Erde des Kartoffelfeldes („schwerem Lehm“) angefüllt wurden, erhielten je 15 gesunde, unmittelbar unter der Pflanze weggenommene junge mittelgroße Knollen, welche so eingepflanzt wurden, daß sie nebeneinander kaum 1 cm unter der leicht angedrückten Bodenoberfläche zu liegen kamen. Die Knollen waren also nur so weit von der anhängenden Erde befreit worden, wie zur Konstatierung ihres thatsächlichen Gesundseins notwendig war (also ungewaschen). Hinsichtlich der Sorten verteilen sie sich auf Rosen-, Mäuse- und Kaiserkartoffel (je 5); von diesen ist zumal die erstgenannte Sorte sehr empfindlich und dem Krankwerden besonders ausgesetzt. Sie hatte, beiläufig bemerkt, auch dies Jahr wieder an der Versuchslokalität<sup>1)</sup> am meisten gelitten, wenngleich bei weitem nicht in dem Maße wie im Vorjahre.

Einer dieser gleichbehandelten, am gleichen Orte im Freien (allseitig von Buschwerk und Mauern umgebene schattig-feuchte Stelle des Gartens) aufgestellten Töpfe wurde nun dicht und hoch mit erkranktem Laube bedeckt und dann beide mit gleichgroßen leeren Töpfen überdeckt. Es wurde täglich 1—2 mal mit Wasser stark begossen (dazu kam noch die regnerische, wenn auch meist etwas kühlere Witterung) so daß der lehmige Boden dauernd wassergesättigt war; das erstreckte sich auf beide Töpfe. Bei dem mit Kartoffellaub bedeckten wurde dies beim Begießen überdies besonders eingehend abgespült, so daß zumal die weißen Schimmelrasen abgeschwemmt wurden. Dieselben gediehen unter dem übergestülpten Topf nach Erwarten besonders gut, sodaß während der Versuchsdauer wiederholt neue noch grüne Triebe und Blattmengen hinzugefügt werden mußten. Somit war Gelegenheit gegeben, daß massenhaft Sporen auf die nasse Erde gelangten und mit dem durchsickernden Wasser auf die Knollen kamen.

In gleicher Weise wie dieser *Phytophthora*-Topf wurde ein dritter angeordnet, in dem die Knollen aber ohne Erde, doch ungereinigt, übereinander gelegt wurden (10 Rosen- und 9 Kaiserkartoffeln). Der erste der genannten Versuchstöpfe diente als Kontrollversuch bezw. zur Bestimmung des Einflusses der dauernden Nässe. Die Versuche liefen vom 1.—16. September. Ich habe die Einzelheiten hier etwas genauer geschildert, um nur zu zeigen, daß es an einer auf die Erkrankung hinarbeitenden gewissen Sorgfalt nicht gefehlt hat.

1) Es wurden diese wie auch manche der später erwähnten Versuche auf Gut Nienfeld bei Lauenau a. Deister, wo ich mich wesentlich dieserhalb während einiger Spätsommermonate (August—September) der beiden verflossenen Jahre aufhielt, angestellt oder doch eingeleitet. Somit fanden also nicht käufliche Knollen, sondern immer wohlbekanntes frisches Material Verwendung, dessen Verhalten gleichzeitig im Felde verfolgt werden konnte.

Wesentliche Förderung erfuhren die Versuche durch das freundliche Entgegenkommen des Herrn Rittergutspächters C. Clostermann, der auch die von ihm gebauten Sorten im Felde zur Verfügung stellte und mich auch sonst mit mancherlei Auskünften in rein praktischen Fragen unterstützte.



**Resultat.** Die aus dem nassen Lehm genommenen Knollen einschließlich der frei ausgelegten, wurden sauber abgewaschen, und da ergab sich denn, daß alle ausnahmslos gesund, von schönem Aussehen und ganz frei von braunen Flecken waren. Unter den 15 Exemplaren des 1. *Phytophthora*-Topfes befand sich eins mit einer Fraßstelle (Engerling), die aber gleichfalls unverändert war. In Topf No. 2 zeigten 3 Exemplare geringfügiges Aufreißen der Schale ohne Erkrankung der Rißstellen. Im 3. Topf trat bei einigen Rosenkartoffeln die gleiche Erscheinung hervor (nebenbei starke Lenticellenentwicklung), aber nur bei einer Rißstelle waren die Ränder einige mm tief, braunverändert ohne fortgeschrittene Erkrankung.

Das Resultat war also überall ziemlich dasselbe. Weder die reichlich gebotene *Phytophthora*-Infektion noch die kontinuierliche Nässe hat in diesem Falle irgendwelche Folgen gehabt.

Einige weitere Versuche wurden teilweise auch im Jahre vorher am gleichen Orte, doch in etwas anderer Anordnung ausgeführt. Hier wurden die Knollen eingeschnitten und kranke Blattstücke fest eingeklemmt. Das ist also die auch sonst wohl angewandte Versuchsanordnung, die übrigens zu ähnlichen aber wenig brauchbaren Ergebnissen führt. Sie mögen deshalb nur kurz erwähnt werden.

**1. Versuchsanordnung.** Die mit eingeklemmtem kranken Laubstück (Einschnitt bis gut zur Hälfte)<sup>1)</sup> versehenen Knollen wurden auf dem Kartoffelacker teils mit kranken Laub bedeckt frei ausgelegt, teils leicht eingepflanzt (4. August 1896, Rosenkartoffeln 10 Exemplare) und nach Intervallen von 5—6 Tagen genauer untersucht. Nach 1—2 Wochen begannen sich Fäulnisprozesse bemerkbar zu machen (nasse Witterung 1896) so daß nach 3 Wochen ein Teil verfault, bezw. im Faulen begriffen war, während ein anderer kleinerer Teil mit etwas gebräunten Schnittflächen gesund geblieben war. Eingegrabene und freiliegende wichen nicht merklich von einander ab, nur daß die eingegrabenen schließlich sämtlich verfaulten. Die Versuche beweisen eigentlich nur, daß verletzte Knollen bei ungünstiger Witterung (Nässe) besonders leicht faulen, was nicht wunderbar ist. Weiteres als dies Verderben bei anhaltendem Begießen haben auch Speerschneider und Hoffmann nicht konstatiert. Bakterielle Fäule herrschte überdies im Jahre 1896 bei der gleichen Sorte an dieser Lokalität vor.

**Wiederholung:** 16 Exemplare „Rosenkartoffeln“ und „Gelbe Kartoffeln“; 6 wurden auf den Boden des Kartoffelfeldes gelegt und mit dem abgeschnittenen Laube bedeckt, 10 an derselben Stelle leicht eingegraben. Einklemmen kranker Laubstücke wie vorher (6. August 1896). Resultat: Bis zum 29. August waren von den oberhalb der Erde liegenden 3 Exemplare total verfault (Bakterienfäule), 2 ge-

1) Festes Einklemmen des mit sichtbarem *Phytophthora*-Rasen versehenen Blattfragments sogleich nach Anlegung des scharfen Einschnitts. Beim wiederholten Nachsehen wurden die Versuchsknollen mehrfach ganz auseinander geklappt (wobei Räschen von *Phytophthora* auf dem Blatte weiterwachsend, leicht aufzufinden waren) und dann wieder zusammengelegt. Störend ist das Verschmutzen durch eindringende Erdpartikelchen. Auch fressende Insekten wurden lästig.

sund geblieben und 1 mit vom Rande ausgehender Pilzfäule (*Fusarium*) befallen, sonst gesund; ähnlich die eingegrabenen (1 cm unter Erde). Hier waren 5 mehr oder weniger bakterienfaul, 5 waren ganz gesund, die Schnittflächen trocken, braun (verfärbt).

2. Versuchsanordnung. Anordnung ganz wie vorher (Einschneiden, 10 Exemplare, 8. August 1896) doch kein Einklemmen kranker Laubstücke. Die Resultate entsprachen ganz den vorhergehenden <sup>1)</sup> (partielles Verfaulen), erwiesen also die Richtigkeit deren Deutung. Eingegrabene verletzte Knollen gehen bei reichlicher Nässe meist durch bakterielle Fäule (die übrigens mit einer „Buttersäure“-Gärung nichts gemein hat und durch die gewöhnlichen „Fäulnisbakterien“ bewirkt wird) etwaigenfalls unter Mitwirkung von *Fusarium* zu Grunde. Es ist ein einfaches Verfaulen wie es jedes andere ähnliche Objekt auch befällt.

Das Experimentieren mit eingeschnittenen oder angeschnittenen Knollen unter „natürlichen“ Verhältnissen ist somit etwas mißlich. Es empfahl sich also eine Abänderung.

3. Versuchsanordnung. Die mit eingeklemmten Blattstücken versehenen Knollen (Sorten etc. wie oben), werden auf einem bedeckten Teller im Zimmer aufgestellt, überdies mit krankem Laub bedeckt (15. August 1896). Nachdem die Knollen einige Wochen unverändert geblieben, beginnt an mehreren Exemplaren ein allseitig von den Schnittflächen ausgehendes, mit Gewebsbräunung verbundenes Welken, das successiv fortschreitet und mit der Zeit alle Knollen ergreift (9 Exemplare). Bis Anfang November (mehrere schon erheblich früher) waren alle tot, gebräunt und stark geschrumpft, zeigen somit die typische, durch *Fusarium Solani* (dessen Polster auch mehrfach durchbrechen) veranlaßte „Trockenfäule“. Unsere Versuchsanstellung hat also ein ganz anderes Resultat als das gewünschte gehabt. Speerschneider <sup>2)</sup>, der das gleiche beobachtete, bringt denn auch richtig *Fusarium* (als eine besondere Entwicklungsform derselben) mit *Phytophthora* zusammen.

Das ist aber schwerlich ein Beweis für die infektiöse Natur der *Phytophthora*. Dem äußeren Bilde entsprach hier übrigens auch das mikroskopische. Die trockengewordene grauweiße, meist aus Stärkekörnern bestehende Masse ist dicht von septierten Hyphen durchsetzt, die Stärkekörner selbst sind intakt; es liegt da somit unsere, bekanntlich auch durch direkte Ansteckung zu erzielende <sup>3)</sup>, durch *Fusarium* bewirkte Zersetzung der gesunden, wenn auch verletzten Knollen, vor, während nichts auf das Mitwirken des Krautfäulepilzes schließen läßt, und wir bezüglich dieses nicht wesentlich weiter gekommen sind.

1) Genauer: 5 freiliegende, davon 2 faulend, 3 partiell erkrankt (mit *Fusarium*-Polstern. 7 eingegrabene: 1 gesund, 3 teilweise stark angefault, 1 verfault, 2 mit *Fusarium*-Polstern (beginnende Trockenfäule) im Erkrankten begriffen, 1 mit bräunlichem Mycel und ebensolchen Sklerotien (*Rhizoctonia*) auf den Schnittflächen, sonst gesund. Bis Ende August.

In Aufzählung und Beschreibung habe ich mich aus gutem Grunde hier überall möglichst kurz gefaßt, obschon die Versuche im einzelnen etwas zeitraubend waren.

2) l. c.

3) C. Wehmer, Ueber die Ursache der sogen. Trockenfäule. (Ber. Botan. Gesellsch. 1896. p. 101 u. f.). Weiteres unten im 2. Teil dieser Arbeit.

4. Versuchsanordnung. (5. September 1896). Im wesentlichen wie vorher, mit dem Unterschied, daß die kranken Blattstückchen durch eine zuvor ausgeschnittene, sogleich wieder eingesetzte Pyramide (ca. 1 cm Seitenlänge) eingeklemmt werden. Die Spitze wurde überdies von letzterer abgeschnitten, wodurch jedenfalls die Vegetation des Pilzes im Innern erleichtert wird; die Knollen (8 Exemplare) werden zwecks Beschränkung der Verdunstung einzeln mit Papier umwickelt und frei in offener Glasschale aufbewahrt. Sorte unbekannt, „Winterkartoffel“, doch notorisch der Krankheit sehr unterworfen <sup>1)</sup>).

Der Versuch entsprach auch hier so ziemlich dem der vorhergehenden Versuchsreihe. Nach Eintrocknen des Pyramidenausschnitts beginnt nach einigen Wochen langsame Bräunung der Schnittflächen und Einfallen der peripheren Korkschale in der für die „Trockenfäule“ charakteristischen Weise, welches dann successive fortschreitet. Nach 8 Wochen (Anfang November) sind 5 Knollen ganz tot (braun und welk), 2 noch zum kleineren Teil gesund, während die letzte erst zu erkranken beginnt. Wir haben auch hier wieder die typische, durch *Fusarium* veranlaßte Trockenfäule vor uns, und dem entsprach in der Mehrzahl der Fälle auch das mikroskopische Bild; die Regelmäßigkeit des Erscheinens dieses Pilzes ist jedenfalls nahezu auffällig. Angesichts dieser Thatsachen darf man aber wohl wieder fragen: wo bleibt die in der Litteratur vielgerühmte schützende Korkbildung verletzter Knollen, wenn *Fusarium* alle Knollen anstandslos durchwachsen kann.

Unsere Versuche sind aber nach einer bestimmten Richtung nicht ganz einwandfrei. Allerdings stellen sie die Thatsache, daß so behandelte Versuchsknollen allmählich fast ausnahmslos der *Fusarium*-krankheit erliegen, außer Zweifel. Es wäre aber doch denkbar, daß diese erst secundär hinzukommt, nachdem vielleicht im Anfang eine an sich sehr geringfügige und deshalb übersehene Erkrankung der Schnittfläche stattgefunden hatte. Aber dann müßten wir doch wieder folgern, daß thatsächlich Ansteckung und Erkrankung durch *Phytophthora* keineswegs so ganz leicht nachweisbar sind — trotz der hier vorliegenden sicher sehr günstigen Umstände.

Allerdings lassen sich auch einige bei dem mikroskopischen Verlauf der fortschreitenden Erkrankung gewonnene Beobachtungen in dieser Weise deuten; sie betreffen aber nur Partien einzelner Knollen und sind auch nicht ganz eindeutig. Die Bräunung des saftig bleibenden Gewebes fand in diesen Fällen ausnahmsweise ohne Begleitung von *Fusarium*-Hyphen sowie von Hyphen überhaupt statt und gleichzeitig spielten sich in diesen braunen Partien, die teilweise isoliert, im gesunden farblosen Gewebe lagen, Stärkelösungsprozesse ab <sup>2)</sup>. Das entspricht also so ziemlich der bekannten Krankheit („Braunfleckigkeit“) der Knolle. Die Erscheinung, bei der so

1) Sie wurden direkt vom Felde genommen, wo ein großer Prozentsatz erkrankt war (Nienfeld).

2) Auf den mikroskopischen Befund der einzelnen Knollen (die der Reihe nach durchuntersucht wurden) komme ich gelegentlich zurück. Hier an dieser Stelle genügt das Wesentliche.

mancherlei mitspielen kann, ist mir einstweilen jedoch noch rätselhaft, da eben weder mikroskopisch Hyphen irgendwelcher Art nachzuweisen waren, noch beim Auslegen der angeschnittenen Stücke in die feuchte Kammer solche herauswuchsen (diese Stücke überzogen sich alsbald mit schleimigen Flecken von Bakterienkolonien). Unsere Versuche sind also auch hier ohne klares positives Resultat.

5. Versuchsanordnung. Unverletzte Knollen (junge Eierkartoffeln, 10 Exemplare) wurden mit krankem Laub bedeckt und alles durch Besprengen dauernd feucht erhalten (Doppelschale bei Zimmertemperatur, August 1896). Nach 5 Tagen war das Laub völlig braun und in Zersetzung begriffen, die Knollen jedoch ohne jede sichtbare Veränderung. Mikroskopisch waren auf der Oberfläche neben zahlreichen Bakterien, sonstigen Pilzsporen auch reichlich *Phytophthora*-sporen nachzuweisen, doch ausnahmslos ohne Keimungserscheinungen.

6. Versuchsanordnung. Im wesentlichen eine Wiederholung von früher. Die Knollen zu  $\frac{3}{4}$  eingeschnitten und kranke Blattstückchen eingeklemmt, zum Teil auch ganz zerschnitten und mit krankem Laub bedeckt (11 Exemplare, Eierkartoffeln, 26. Sept. 1896). Alles lag im feuchten Raum (Doppelschale) und wurde durch Zerstäuber andauernd feucht erhalten. Das Endresultat war hier (Anfang November — also nach ca. 6 Wochen) eine unter Fäulnisgeruch und Fliegenlarven-Auftreten verlaufende starke Zersetzung, an der Bakterien und *Fusarium* (mehrfach Conidienpolster) jedenfalls wesentlich beteiligt waren. Es war zu dieser Zeit nur noch eine Knolle äußerlich ganz gesund, 2 andere bloß zu einem kleineren Teil. Auf sie ist noch zurückzukommen. Jene Zersetzung auf *Phytophthora* zurückzuführen, wäre natürlich ganz willkürlich<sup>1)</sup>.

Bezüglich des Verlaufes im einzelnen sei folgendes bemerkt. Die Laubstücke zerfallen auch hier unter Bräunung, indem sie sich mit *Phytophthora*- und anderen Schimmelfäulen bedecken — das gilt allgemein für alle Versuche dieser Art. Die feuchten Schnittflächen bräunen sich stellenweise und mikroskopisch findet man dort septierte Hyphen neben zahlreichen Bakterien gemischt mit (ungekeimten!) *Phytophthora*- sowie *Alternaria*-Sporen<sup>2)</sup>, teilweise in Verbindung mit dem Mycel. Während der ersten 5 Tage sind mir in den Präparaten weder die erwarteten keimenden *Phytophthora*-Sporen noch junge Mycelien derselben zu Gesicht bekommen. Weiterhin begann dann bei den meisten Exemplaren ein zu der bereits genannten völligen Zersetzung führender Verfall; mikroskopisch zeigten sie das Bild der *Fusarium*-Zersetzung (septierte Hyphen, intakte Stärkekörner) neben Bakterienvegetation, somit wiederum kein klares Ergebnis.

1) Das findet man z. B. in dieser Weise in oben citierten älteren Arbeiten. Speziell Speerschnneider verwechselt auch offenkundig alle möglichen Pilzsporen mit solchen von *Phytophthora*. Auf die ältere Litteratur näher einzugehen, ist aber nicht Zweck dieser Mitteilung.

2) Den angeblich die „Dürrfleckenkrankheit“ hervorrufenden Pilz kann man fast jederzeit auf altem Laub finden, und wurde sein regelmäßiges Vorkommen u. A. auch schon von Holle erwähnt. Sorauer hat einmal wieder Veranlassung genommen, daraus eine neue Art zu machen (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. p. 1 u. f.). Pilz wie Krankheit wurden übrigens schon von Frank kürzlich etwas näher beleuchtet (dies. Centralbl. 1897. p. 403).

Eine Ausnahme machten die 3 langsamer zerfallenden, bereits genannten Knollen, von denen eine mit nur gebräunter Schnittfläche noch ganz gesund war. Bei diesen Knollen zeigten sich im Innern des noch lebenden normalen Gewebes an mehreren Stellen die einige Millimeter unterhalb der Schale liegenden auffälligen braunen Flecke, wie sie in derselben Weise auch für die Erkrankung auf dem Felde charakteristisch sind. Nehmen wir an, daß diese Exemplare ursprünglich ganz gesund waren und sehen wir von dem negativen Ausfall des versuchten Hyphennachweises ab, so wäre hier in der That die gewünschte Erkrankung eingetreten.

7. Versuchsanordnung. In die durch Einschnitt verletzten Knollen werden statt der kranken Kartoffelblätter Blattstücke von *Syringa vulgaris* eingeklemmt. Das war also ein Gegenversuch zu dem oben genannten. Ein Teil derselben wurde wieder (einzeln) mit Papier umwickelt (4 Exempl.), ein anderer Teil (6 Exempl.) lag frei an der Luft, alle mit einer gemeinsamen Glasschale bedeckt (Laboratoriumsversuch vom 27. Nov. 1896).

Das Resultat war, daß die in Papier geschlagenen Knollen unter diesen Verhältnissen schließlich gleichfalls trockenfaul wurden, die freiliegenden jedoch monatelang gesund blieben. Nur diese machten sämtlich zum Frühjahr eine Mehrzahl von Trieben, die im übrigen stehen blieben und (wie auch die Knollen selbst) endgiltig verdorrt. Nach 7 Monaten (15. VII. 1897) waren noch zwei dieser ganz gesund, wenn auch stark zusammengeschrumpft, drei zeigten beginnende Trockenfäule, eine war ganz eingetrocknet. Die eingewickelten Exemplare waren bereits lange vorher zu einer „trockenfaulen“, mit farblosen septierten Mycelien und großen Hohlräumen durchsetzten harten Masse zusammengeschrumpft, so daß auch keine derselben ausgetrieben hatte.

Die Zersetzung der Knollen von den Schnittflächen aus erfolgt somit auch beim Einklemmen eines beliebigen Blattes, sofern nur die anderen Umstände die richtigen sind (Behinderung raschen Austrocknens).

In den bisherigen Versuchsreihen haben wir die natürlichen Verhältnisse immer mehr aus dem Auge verloren. Es ergab sich aber doch, daß jedenfalls der Ausschluß des zerfallenden Blattgewebes erforderlich ist. Trotz des fast regelmäßig auftretenden Zerfalls der angeschnittenen Knolle war wenig für die Ansicht, daß hier *Phytophthora* anstoßgebend, ins Feld zu führen. Es ging auch ohne sie. Die weiteren Versuche wurden so angestellt, daß die Knollen direkt mit dem hierzu auf zerschnittenen Kartoffeln gezüchteten Pilz in Berührung gebracht wurden<sup>1)</sup>. Das sind zwar wiederum ganz unnatürliche Verhältnisse, es schien aber auf andere Weise eine Klarheit nicht zu gewinnen. Uebrigens wächst *Phytophthora* auf rohen Kartoffelstücken in der feuchten Kammer wenigstens eine Zeit lang recht befriedigend als lockerer, heller Rasen, von dem mit Pincette leicht Material für Uebertragungsversuche zu entnehmen ist.

1) So verfuhr z. B. auch de Bary in ähnlicher Weise.

Die Kulturen können so aber weder ganz rein sein, noch sind sie haltbar, indem die eminent fäulnisfähigen Saftzersetzungsprodukte alsbald bakterieller Zersetzung unterliegen, die den Pilzrasen anscheinend sofort vernichtet (alkalische Reaktion!)<sup>1)</sup>. Die Versuche, den Pilz auf Zuckerlösung, Kartoffelsaft oder verdünnter Würze in Kolben zu züchten, schlugen fehl, denn es ergab sich, daß selbst ganz junge (1—2 tägige), auf Kartoffelstücken gezogene Rasen nicht rein sind, so daß selbst minimale, mit Platinnadel abgenommene Mycelspuren bereits Elemente des *Fusarium Solani* enthielten. In den angelegten Kulturen entwickelte sich langsam (in 1—2 Wochen) ein helles Mycel zu einer schneeigen Decke, die bemerkenswerterweise in allen 6 verschiedenen Versuchen aus solchen des *Fusarium* (mit seinen charakteristischen Sporen und Gemmen) bestand. So lange man somit nicht Kulturen aus Sporen ableiten kann, dürfen alle *Phytophthora*-Vegetationen wohl als unrein betrachtet werden. Das ist vielleicht nicht unwichtig, kommt übrigens auch für Beurteilung unserer weiteren Resultate sowie die anderer Versuchsansteller in Betracht.

8. Versuchsanordnung. Die auf Bänken innerhalb der großen feuchten Kammer liegenden Knollen werden je an 3 signierten (blau umzogenen) Stellen mit einem Flöckchen des *Phytophthora*-Rasens bedeckt, das täglich durch einen Wassertropfen frisch angefeuchtet wird. Es werden genommen: 3 Knollen, ganz unverletzt und gesund, 3 leicht angeschnittene, 6 Hälften, 3 mit keilförmigem Ausschnitt versehene. In letzterem Falle wird die Mycelflocke (reichlich sporentragend) eingeklemmt, in den anderen Fällen auf die kurz vorher gemachten Schnittflächen bezw. die natürliche Schale lose aufgelegt (12. XII. 1896).

Das Resultat war, daß nach einigen Wochen alle durch Anschneiden verletzten Knollen in Zersetzung begriffen waren und durch Bakterien, *Fusarium* und Insekten total verderben. Die zuerst entstandenen zarten *Phytophthora*-Räschen vergingen nach kurzem; die verfärbten Stellen wurden feucht-schleimig (Bakterien), womit die Thätigkeit des Krautfäule-Pilzes abgeschlossen war. Langsamer verlief der Prozeß an den Exemplaren mit Pyramiden-Ausschnitt, hier überwog auch trockene Pilzzersetzung (*Fusarium*).

Anders verhielten sich die unverletzten Knollen; dieselben blieben wochenlang gesund und unverändert, so daß die 9 verschiedenen Stellen, wo für die Entwicklung der aufgetragenen Pilzflocke gesorgt wurde, nichts Besonderes zeigten. Nur an 2 Stellen (die eine einem Auge anliegend) entwickelte sich langsam ein kleiner, hart bleibender, dunkler fleck, wie er für unsere Erkrankung charakteristisch ist, zum Umfange einiger Quadratmillimeter, und ähnliches zeigte sich auch an einem der obigen Exemplare mit keilförmigen Ausschnitt. Das wäre also thatsächlich ein — freilich recht bescheidenes — positives Resultat.

1) Der Saft gesunder Knollen reagiert säuerlich (schwach lakmusrötend). Bei bakteriellen Zersetzungen wird er fast durchweg alsbald alkalisch und gleiches tritt mehrfach infolge von Pilzvegetationen auf, so z. B. sehr deutlich durch *Fusarium solani*. Vielleicht ist das für *Phytophthora* verhängnisvoll.

9. Versuchsanordnung. Sie entsprach in der Hauptsache der vorhergehenden, vermied aber den feuchten Raum, als jeder Art von Zersetzung stark Vorschub leistend; speziell sollte außerdem das Verhalten angeschnittener, nicht infizierter Knollen unter diesen Verhältnissen festgestellt werden. Die Versuchsexemplare (6 unverletzte, 5 angeschnittene, 5 desgl.) lagen auf einem Teller unter Glasglocke, also nicht in der feuchten Kammer, bei der Temperatur des gleichmäßig warmen Laboratoriums (Versuchsbeginn 23. XII. 1896), was im allgemeinen für alle in den Winter fallenden Versuche gilt.

Die unverletzten gesunden (gut abgewaschenen) wurden an je 3—4 geeigneten Stellen der Oberseite in oben beschriebener Weise mit Mycelflocken belegt und sogleich sowie auch weiterhin täglich mit Wassertropfen angefeuchtet; es ist das jedenfalls bei der nicht konstant feuchten Atmosphäre erforderlich oder doch unstreitig sehr förderlich. Von den 10 angeschnittenen (gerader Abschnitt eines Viertels der Knolle) wurde die Hälfte gleichfalls mit je einer Mycelflocke in der Mitte belegt, die andere Hälfte blieb ohne Pilzübertragung.

Die Versuche verliefen ähnlich denen der 8. Reihe. Zunächst ist aber bemerkenswert, daß alle angeschnittenen Knollen, auf die kein Mycel übertragen war, vollständig gesund blieben und das auch noch waren, als der Versuch mit ihnen bis in den Sommer des kommenden Jahres ausgedehnt wurde (15. VII.), allerdings schrumpften sie allmählich total ein (starke Verdunstung durch die große Schnittfläche), aber beim Zerschneiden war innerlich alles normal (noch saftiges, teilweise ergrüntes Gewebe).

Ganz anders verhielten sich die zwei anderen Versuchsnummern (unter derselben Glocke). Zunächst zersetzten sich die angeschnittenen Knollen; nachdem dort *Phytophthora* nur ganz kurze Zeit (einige Tage) in kümmerlichem Rasen erschienen war, wurde die verfärbte Infektionsstelle dauernd feucht und es begann von hier aus eine alsbald unrein werdende Zersetzung (Bakterien, Hyphen mit Septen, Fliegen), als deren Erreger jedenfalls *Fusarium* (dessen Polster zahlreich die Schale durchbrachen) die Hauptrolle spielte, und deren Residua endgiltig die mit ganz zersetzter Innenmasse gefüllten Korkschalen waren. Ueber den etwaigen Anteil der *Phytophthora* ist also nichts anzugeben. Es ist aber zu beachten, daß das häufige Aufsetzen des Wassertropfens hier wohl die eigentliche Bedingung für die Zersetzung geschaffen hat.

Die 3. Versuchsnummer mit den unverletzten Knollen hat naturgemäß unser Hauptinteresse; hier muß sich das nachzuweisende erst zeigen. Eine Mycelentwicklung auf den befeuchteten Stellen kam hier ebensowenig zustande wie bei No. 8; man vermochte nur bei genauer Betrachtung zu sehen, wie auf der Mycelflocke in den ersten Tagen kleine Hyphen sich aufrichteten, solche somit weiterlebte. Späterhin sah man aber so gut wie nichts mehr und die gesamten (blau umstrichenen) 20 Uebertragungsstellen fielen in keiner Weise auf. Nach ungefähr 4 Wochen hoben sich aber an einigen Exemplaren zusammen vier braune, harte Stellen von einigen Quadratmillimetern bis zu fast Pfenniggröße ab, die thatsächlich kranken

Stellen, wie solche auf dem Acker gefunden werden, entsprachen; an allen übrigen Punkten hatte sich nichts verändert. Das Resultat ist also wieder ein recht bescheidenes.

Uebrigens gingen mit 2 Ausnahmen diese Kolben nach einigen Monaten gleichfalls langsam an der obigen Fäule zu Grunde (*Fusarium*-Polster, Fliegen<sup>1)</sup> etc.), nachdem sie noch zum Frühjahr getrieben hatten. Die braunen Flecke hatten sich dabei nicht weiter entwickelt, wie ein beschränktes Umsichgreifen ja auch für die Erkrankung auf dem Felde bezeichnend ist.

Die zusammengefaßten Ergebnisse sagen folgendes aus:

1) Die Ansteckungsversuche in den Töpfen waren resultatlos.

2) Die Versuche, angeschnittene Knollen durch eingeklemmtes krankes Laub zu infizieren, lieferten überwiegend undeutliche Resultate; im Freien bei nassem Sommerwetter kam es mehrfach zu einer auch sonst (ohne Berührung mit krankem Laub) eintretenden Fäulnis (*Fusarium*- und Bakterien-Fäule); im Laboratorium innerhalb der feuchten Kammer unterlagen die Knollen meist der *Fusarium*-Fäule. Ueberdies trat diese Zersetzung mehrfach auch an den mit eingeklemmten Syringa-Blättern versehenen Knollen auf, so daß also für sie das Gegebenensein der *Phytophthora* nicht erforderlich ist. Nur in wenigen vereinzelt Fällen und in sehr bescheidenem Umfange kam die charakteristische Feldkrankheit (Braunfleckigkeit des hart und saftig bleibenden Gewebes — wohl in der Hauptsache dem entsprechend, was man früher „trockene Fäule“ nannte — zum Vorschein.

3) Die Versuche, durch Uebertragung von Mycelflocken (mit Sporen) auf die unverletzte Korkschale bessere Resultate zu erhalten, schlugen gleichfalls meist fehl; nur in wenigen Fällen erkrankten kleine Stellen der Versuchsexemplare in der bezeichnenden Weise. Knollen mit frischen Schnittflächen erlagen unter solchen Verhältnissen regelmäßig einer wesentlich durch *Fusarium* veranlaßten unreinen Zersetzung, während nicht mit Mycel in Berührung gekommene in relativ trockener Atmosphäre intakt blieben. Derartige Mycelflocken oder mit Nadel abgenommene Sporen von *Phytophthora* können nicht als reines Material („Reinkultur“) gelten; sie enthielten stets *Fusarium*-Elemente.

Daraus wäre an Schlüssen abzuleiten:

a) Die durch Schnitt verletzten Knollen sind zersetzenden Einflüssen gegenüber sehr empfindlich, sobald die Schnittfläche nicht sauber und frei an der Luft liegt; sie unterliegen gewöhnlich der *Fusarium*-Fäule, die je nach Umständen von Bakterien- und Insekten-Auftreten (sekundäres Moment) begleitet ist.

b) Die Hervorrufung der „Braunfleckigkeit“ durch angestrebte Infektion ist sehr difficil; in den hier mitgeteilten, während verschiedener Jahre und Jahreszeiten sowie unter mehrfach veränderten Bedingungen angestellten zahlreichen Versuchen gelang das nur aus-

1) Durch in die Gefäße getropftes Formalin die Insekten abzuhalten, war nicht möglich.



nahmsweise. In der Erde liegende unverletzte Knollen wurden überhaupt nicht angesteckt; zuvor angeschnittene, unterirdisch oder in den Versuchsgefäßen freiliegende erlagen, soweit sie nicht gesund blieben, anderen, zu totaler Zersetzung führenden Erkrankungen; unverletzte blieben zunächst wochenlang unverändert. Die in den letzteren Fällen erhaltenen vereinzelt positiven Resultate dürrtiger Art sind an sich zur Erhärtung der Thatsache zwar brauchbar, sie beweisen aber, genau genommen, noch nichts für die gleiche Möglichkeit unter natürlichen Verhältnissen, wo die Knollen unverletzt im Erdboden liegend vielleicht ungleich günstiger gestellt sind; sie erklären zumal in keinem Falle den Umfang der Felderkrankung.

c) Daraus ergibt sich also wohl weiter, daß bei der Felderkrankung voraussichtlich noch irgend etwas anderes — seien das nun chemische, physikalische oder biologische Einflüsse — hinzukommen muß; das reichliche Vorhandensein des Pilzes allein (einschließlich der ihm günstigen Bedingungen: Nässe und Wärme) thut es selbst bei empfänglichen Sorten noch nicht. Erfahrungen der Praxis stehen damit übrigens auch im Einklang. Offenbar ist es deshalb wohl ungleich wichtiger, nach den erforderlichen eigenartigen Bedingungen (Nässe und Wärme genügen nicht), als nach dem Pilze selbst zu suchen; die Aufklärung einer „Krankheit“ ist ja stets ein mehr oder weniger verwickeltes Problem, welches, genau genommen, mit der Kenntnis des Erregers noch nicht gelöst ist, sondern erst beginnt. Wir lassen aber die Frage, ob nun wirklich die *Phytophthora* die eigentliche Ursache der Flecken ist<sup>1)</sup>, bis zum Vorliegen eines genaueren entwicklungsgeschichtlichen Verfolges dieser hier noch ganz offen.

Schließlich muß noch kurz auf den Hyphennachweis in den erkrankenden braunen Partien eingegangen werden; es ist oben schon bemerkt, daß man sehr oft vergeblich sucht, wie ja auch Schacht<sup>2)</sup>, der uns die ersten derartigen Gewebspartien genauer und stark vergrößert abbildet, nichts von *Phytophthora*-Fäden gesehen hat. So lange das aber nicht für jeden Fall gezeigt ist, halte ich die heutige Auffassung, derzufolge dieser Pilz die eigentliche und ausschließliche Ursache sein soll, für unzureichend begründet. Auch de Bary ist hier wohl etwas zu weit gegangen; derartige Krankheiten müssen in möglichst enger Fühlung mit der Praxis verfolgt werden.

Der Pilznachweis in dem kranken Gewebe, das auf Grund seiner Härte gut zu schneiden ist, kann mikroskopisch oder kulturell geschehen; im letzteren Falle werden die sauber zerschnittenen Exem-

1) Wie andere Pilze, so könnte natürlich auch dieser in erkranktes oder erkrankendes Gewebe hineinwandern. Was dann aber die eigentliche Ursache der Erkrankung sein soll, bliebe einstweilen ganz dunkel. Uebersehen wollen wir nicht, daß alle bisherigen auch von Anderen gemachten Ansteckungsversuche mit unreinem (so auch *Fusarium*-haltigen) Material gemacht sind. Vor allem wären also Reinkulturen anzustreben.

2) Die Kartoffelpflanze und deren Krankheiten, Taf. VIII, Berlin 1856.

plare einige Tage im feuchten Raume gehalten, wodurch etwa vorhandenen lebenden Hyphen Gelegenheit gegeben ist, in den Luftraum als weißer Rasen emporzuwachsen.

Beide Wege wurden von mir in den meisten Fällen mit rein negativem Resultate besprochen, und es sei hervorgehoben, daß nur ein einziges Mal ein augenfälliges positives Ergebnis erhalten wurde. Es war das mit einer stark kranken (fleckigen) Knolle, die am 26. Nov. 1896 aus dem Keller kam; es ist gleichzeitig bezeichnend, daß hier sowohl der mikroskopische wie kulturelle Nachweis gelang, und von diesem Material wurden denn auch die oben zur Infektion benutzten Kulturen abgeleitet. Demgegenüber bedürfen also alle negativen Resultate noch der Aufklärung, ebenso wie die obigen negativen Uebertragungsversuche.

Es gaben aber diese Kulturversuche — die ja als wesentliche Unterstützung des mikroskopischen Befundes gelten müssen — mehrfach einen ganz anderen Ausfall, indem nämlich wiederum *Fusarium*-Rasen erscheinen, so daß hier einige angefügt werden mögen.

1. Versuch. Sechs gereinigte braunfleckige Knollen behutsam zerschnitten und unmittelbar darauf auf Bänke einer gr. feuchten Kammer gelegt (23. Nov. 1896). Nach 2—3 Tagen erschienen auf mehreren peripheren braunen Stellen zarte, weiße Mycelien; die inneren Flecke blieben zunächst vegetationslos, erst nach 3—4 Tagen traten hier vereinzelt die gleichen zarten Rasen auf. Mikroskopisch gehörte das genannte hier vorliegende junge Mycel dem *Fusarium* an, denn schon am 2. Tage waren reichlich junge, quergeteilte Conidien vorhanden. Querwände der zarten Hyphen waren bei genauer Betrachtung (Färbung) deutlich nachzuweisen, sie sind aber zunächst sehr weitständig und können bei oberflächlicher Besichtigung leicht übersehen werden. Weiterhin entwickelten sich dann umfangreiche schneeige Ueberzüge des Pilzes auf den trocken bleibenden verkorkenden Schnittflächen. Das Resultat war also ganz negativ; *Phytophthora*-Fäden hätten bereits nach 2—3 Tagen erscheinen müssen, sie blieben aber vollständig aus. In Hinblick auf die Leichtkenntlichkeit der Sporenträger ist dies unschwer nachzuweisen.

Die ersten jungen *Fusarium*-Conidien sind, beiläufig bemerkt, sehr kurz ( $5 \times 3 \mu$  bis  $18 \times 3,5 \mu$ ), kaum oder nur schwach gebogen, noch unseptiert oder erst mit einer Scheidewand; die Hyphendicke beträgt hier ungefähr  $3 \mu$ .

2. Versuch. Knolle aus einem der obigen Uebertragungsversuche mit einem harten braunen Flecke (Nov. 1896), zerschnitten etc. wie oben. Die braune Stelle erst unverändert bleibend, dann traten zarte Hyphen auf, die mikroskopisch den soeben beschriebenen entsprachen. Ausfall: negativ; keine *Phytophthora*.

3. Versuch. Eine zweite ebensolche Knolle; die kleine braune Stelle angeschnitten und wie vorher ausgelegt. (25. Nov. 1896.) Resultat: Es erschien keinerlei Mycel, bis zum 7. Dez. (Abbruch des Versuches) war die braune Stelle unverändert.

Weitere zu gleichen Resultaten führende Versuche<sup>1)</sup>, die z. T.

1) de Bary behauptete die Nachweisbarkeit des Pilzes in jeder kranken Kartoffel.

auch mit den direkt aus dem Acker genommenen kranken Knollen angestellt wurden (Nienfeld), dürfen hier füglich unerwähnt bleiben; es möge aber der oben genannte positive Versuch angeführt werden als Beweis, daß die Sache wirklich gelingt, wenn die Vorbedingungen gegeben sind.

4. Versuch. Knolle stark braunfleckig, aus dem Vorratskeller (Hannover, 26. Nov. 1896), wie oben behandelt. (Mikrosk. Hyphen mit Haustorien.) Resultat: Nach 3 Tagen emporwachsende, die braunen Stellen bedeckende, niedrige, grauweiße, lockere (nicht dichte schneeweiße!) Rasen, die mikroskopisch aus den charakteristischen Sporenträgern der *Phytophthora* bestehen. Während der nächsten Tage gleichmäßiges Weiterwachsen der dem Anscheine nach reinen Vegetation, die erst mit dem 12. Dez. zu verfallen beginnt. Das ist also ein ganz prägnantes Ergebnis, dem gegenüber die vielen negativen um so auffälliger sind. Beim Vorliegen von *Phytophthora*-kranken Stücken beginnt — wie das auch de Bary fand — im allgemeinen nach 3–4 Tagen (Zimmertemperatur) in der feuchten Kammer die Luftvegetation (Sporenträger); das erwiesen ja auch die Uebertragungen derselben auf die hiervon abgeleiteten Versuche (Kartoffelstücke mit frischer saftiger Schnittfläche in der feuchten Kammer).

Fassen wir das Gesamtergebnis der vorliegenden Mitteilungen kurz zusammen, so ergibt sich, daß die augenblicklich gültige Ansicht, derzufolge der Krautfäulepilz auch die Erkrankung der Knollen (wie sie allgemein unter dem Bilde des partiellen Braunwerdens von Fleisch und Schale verbreitet und bekannt ist) veranlasse, jedenfalls durch direkte Versuche nicht leicht zu beweisen ist. Es spielen bei dieser Krankheit offenbar irgendwelche Dinge mit, die, wie auch manche auffällige Thatsache, noch der Erklärung bedürfen, so daß thatsächlich die praktisch wichtigste Knollenerkrankung in ihren Einzelheiten zur Zeit wohl als noch nicht genügend aufgeklärt angesehen werden muß. Das Gleiche ergibt sich übrigens bei einer halbwegs kritischen Durchsicht der Originallitteratur<sup>1)</sup>, indem gerade diejenigen Versuche, auf welchen die heutige Ansicht über die einseitige Bedeutung der *Phytophthora* fußt, zu nicht unwesentlichen Einwänden Anlaß geben.

3. November 1897.

„Die gegenwärtig herrschende Kartoffelkrankheit“. 1861. p. 34–35. Man hat aber zu berücksichtigen, daß diese Arbeit eine mehr populäre, für weitere Kreise bestimmte Darstellung ist und für deren allgemein gehaltene Angaben kein bestimmtes Beweismaterial beigebracht wurde. Alles genaue Detail fehlt. Uebrigens hielt de Bary auch *Fusarium* noch nicht für ansteckungsfähig gegenüber verletzten Knollen, was im Gegenteil nicht schwer nachzuweisen ist.

1) Daß Lehrbücher, zumal wo die Verfasser die Resultate nach Angaben der Autoren oder anderer Bücher einfach wiederholen, hier nicht in Betracht kommen können, bedarf kaum der Erwähnung.

*Nachdruck verboten*

## Il Mal dello Sclerozio della Barbabietola.

Nota del Dott. **Vittorio Peglion**,

Assistente nella R. Stazione di Patologia vegetale di Roma.

Nei campi di prova per la coltivazione delle barbabietole da zucchero istituiti nel territorio di Terracina dal Comm. F. Cirio, si è manifestata una malattia del sistema radicale assai ben distinta da altre che già sono state descritte e riscontrate qua e là in Italia. I caratteri da cui si riconoscono le piante colpite da questa malattia, sono quelli comuni a tutte le piante il cui sistema radicale sia soggetto ad una lenta alterazione. Il fogliame diventa poco a poco giallo, avvizzisce, ed invaso dalle comuni muffe saprofitarie, si putrefà. Estirpando le piante ammalate esse offrono poca resistenza allo strappo: il fittone è avvizzito, bruno, ricoperto da larghe frangie di micelio bianco-argentino. Tale colorazione del micelio, unitamente ad altri caratteri che si possono desumere dallo studio microscopico delle parti lese, permette di distinguere agevolmente questa malattia dal cosiddetto mal vinato che, come è noto, è causato dalla *Rhizoctonia violacea*. Quest'ultimo parassita invade talora abbastanza intensamente le piantagioni di barbabietole: il fittone è anche in questo caso putrefatto e ricoperto da un sottile velo miceliale che a guisa di ragnatela, vinosa, dalla parte alterata del fittone sale ad avvolgere la parte ancora sana.

Sezionando trasversalmente il fittone, in corrispondenza delle parti ricoperte dal micelio, si vedono delle chiazze brune che si estendono dall'esterno verso la parte centrale della radice stessa.

Se si mantengono le radici ammalate in camera umida, il micelio si sviluppa assai rapidamente fino a ricoprire in modo uniforme gl'interi frammenti di un velo bianchissimo; questi, dopo due o tre giorni di permanenza nel termostato si affloscia leggermente e perde l'aspetto argentino. Si formano allora innumerevoli piccoli sclerozi che s'iniziano sotto forma di puntini bianchi, congiunti tra loro da sottili cordoncini miceliali, in guisa da simulare tanti grappoletti. Questi sclerozi ingrandiscono lentamente ed acquistano una colorazione bruno-dorata, per cui essi ricordano, sia pel colore, sia per la forma e le dimensioni, i semi di alcune specie di *Trifolium* o di *Medicago*.

Col prolungare il soggiorno in camera umida, i frammenti di radice si ricoprono di colonie di microorganismi ubiquitarii, soprattutto di saccaromiceti, micodermi ed altri analoghi, che completano l'alterazione dei frammenti stessi.

Nei tessuti delle zone imbrunite e delle zone circostanti, apparentemente ancora sane, è facile porre in evidenza un micelio che è in diretta continuazione colle produzioni miceliari esterne. Basta fare delle sezioni non molto sottili, e trattarle con acqua di Javelle diluita (1% di cloro) durante alcune ore, dopo averle ripetutamente lavate con acqua distillata: tolte le sezioni stesse dalla soluzione suddetta e la

vate daccapo con acqua, si ottengono bellissime preparazioni colorendo il micelio con bleu Poirier acidificato con acido lattico. Il micelio si colora in bleu intenso e spicca in mezzo ai tessuti che restano incolori o debolmente colorati. Si può in tal modo vedere il micelio formare una rete che racchiude nelle numerosissime maglie tutti gli elementi cellulari, dei quali talvolta attraversa le pareti. Alla superficie del fittone, questi filamenti miceliari si uniscono in un velo piuttosto lasso, in seno al quale è facile seguire la formazione degli sclerozi; dall' intreccio di alcuni filamenti e dall' aggomitolarsi delle ramificazioni degli stessi si formano questi corpiccioli, dapprima a struttura uniforme, poscia costituiti da una zona corticale formata da due o tre strati di ife brune, e da una parte centrale ad elementi jalini, con plasma granuloso non molto strettamente addossati gli uni agli altri.

I diversi sclerozi, che si generano contemporaneamente, restano riuniti tra loro da sottili cordoni miceliari che si prosiegono diffondendosi nel terreno circostante a guisa di sottili rizormorfe bianche.

Se si trasportano queste rizormorfe, dopo lavate con acqua distillata, sopra fette di barbabietola sterilizzate, esse danno origine in due o tre giorni ad un micelio così rigoglioso, da impedire lo sviluppo delle altre muffe, che di solito, in tali condizioni, tendono ad inquinare le culture. Dopo una settimana dall' infissione, le fette di barbabietola sono ricoperte da un feltro bianco, che ad occhio nudo si mostra formato da filamenti elegantemente ramificati, arborescenti. Si formano in breve tempo gli sclerozi perfettamente identici come dimensioni e forma a quelli che si trovano sulle radici ammalate.

Ho trapiantato in tre grandi vasi alcune barbabietole sanissime gentilmente messe a mia disposizione dal Direttore della R. Stazione Agraria di Roma e che provenivano dal campo sperimentale; dopo alcuni giorni, durante i quali queste piante furono ripetutamente inaffiate in modo da essere sicuri della ripresa, ho posto in vicinanza della radice di due di queste piante, delle fette di bietola ricoperte di micelio in pieno sviluppo. Esaminate le radici delle due piante, dopo una quindicina di giorni, una di esse mostravasi ricoperta in due zone della larghezza di uno scudo, da numerosi fiocchi di micelio bianco in corrispondenza dei quali i tessuti della radice cominciavano ad imbrunire. Alcuni giorni dopo in mezzo a questo micelio, che nel frattempo si era sempre più diffuso, erano comparsi i numerosi e caratteristici sclerozi bruni.

Finora non ho ottenuto alcuna fruttificazione che permetta di definire a quale specie si debba riferire il fungo in quistione. Debbo però a questo punto ricordare che Prillieux, il quale ha studiato un' analoga malattia sviluppata in Spagna sulle barbabietole, è di opinione che gli sclerozi che produce il micelio parassita della barbabietola, sieno molto simili se non identici allo *Sclerotium semen*, dal quale prende origine l'apparato fruttifero della *Typhula variabilis*. Però finchè non si ottengano le fruttificazioni da questi sclerozi, la quistione non è risolta; spero di giungere a tale risoluzione coll' aiuto delle numerose colture che ho istituite sia col micelio, sia cogli sclerozi in substrati nutritivi liquidi e solidi.

Prillieux asserisce che questo parassita sia cagione di danni estremamente gravi nelle coltivazioni della Spagna ov' esso è stato osservato. Nelle prove culturali di Terracina, dalle informazioni avute, si può ritenere che il 5% delle barbabietole fosse invaso.

E' quindi necessario cercare di opporsi a questa malattia che potrebbe ostacolare non poco una delle colture che possono più di ogni altra contribuire al miglioramento delle condizioni economico-agrarie di tante regioni italiane. Sarà quindi opportuno distruggere col fuoco o col incalcinatura le barbabietole colpite che assai agevolmente si potranno riconoscere; soprattutto è assolutamente irrazionale buttare le radici infette in concimaia o lasciarle marcire sul posto. Sia in un modo, sia nell' altro si formano gli sclerozi che sono costituiti in guisa da salvaguardare la specie dall' azione nociva degli agenti esterni, e che trovando nel suolo le condizioni opportune possono riprodurre la malattia negli anni avvenire.

Per distruggere le rizomorfe e gli sclerozi che si trovano nel terreno circostante alle piante infette, è necessario provare a disinfettare il terreno stesso. Si potrà a tale scopo usare la calce viva la quale unisce il costo poco elevato all' azione antisetetica prolungata relativamente ad altre sostanze (acido solforico, solfato ferroso, solfato di rame ecc.) che sono pure state proposte per lo stesso scopo. Quindi si possono scavare delle buche di 50 centim. di lato circa in corrispondenza delle parti occupate dalle piante infette ed il terreno smosso si mescola con un terzo circa del suo volume di calce viva; riempita daccapo la buca si inaffia ripetutamente il terreno si mosso di guisachè da un lato il calore sviluppato dalla idratazione della calce e dall' altro la causticità dell' acqua di calce così generatasi, varranno a distruggere quasi sicuramente tutti i germi contenuti nel suolo infetto.

Sono noti i buoni risultati avuti da Foëx nella distruzione del micelio della *Dematophora necatrix*, mercè le iniezioni di solfuro di carbonio, per cui si potrebbe pure tentare se ci sia convenienza anche in questo caso di adottare tale sistema. Si potranno iniettare circa gr. 50—70 di solfuro per ogni metro quadrato, giovandosi di uno dei pali iniettori di cui oggi si possiedono vari modelli che funzionano in modo perfetto.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ein historisches Supplement zu Dr. J. Behrens' Abhandlung: „Die Reihefe in der Weinbereitung“<sup>1)</sup>.

Von

**Alfred Jörgensen,**

Direktor des gährungsphysiologischen Laboratoriums Kopenhagen.

Der Verf. der oben genannten Abhandlung beginnt seine Darstellung mit folgenden Worten: „Im Jahre 1870 stellte Reess in einer grundlegenden Arbeit die Gattung *Saccharomyces* für die Fermente der alkoholischen Gärung auf und unterschied in dieser Gattung zuerst eine Anzahl von Arten, von denen mehrere in Most und Wein gefunden waren. Die Nutzanwendung dieser rein wissenschaftlichen Untersuchungen für die Praxis lag schon damals nahe —“ u. s. w.

Hiermit hat der Verf. Reess' in einer gewissen Richtung verdienstvolle Arbeit in ein unrichtiges Licht gestellt, und infolgedessen ist der sichere Ausgangspunkt für die Darstellung des Verf.'s verschwunden.

Reess sprach, wie bekannt, in seiner Abhandlung klar und deutlich aus, daß er nicht mit reinen Kulturen arbeitete. Sein Prinzip, die Hefenarten mittels der Gestalt und Größe der Zellen zu bestimmen, ohne Berücksichtigung der Art und Weise, auf welche sie gezüchtet wurden, ist denn auch ein verfehltes und konnte demzufolge gar keine Bedeutung erlangen. Die Reess'sche Arbeit kann daher nicht als eine grundlegende bezeichnet werden.

In den von Bersch (1871) citierten Äußerungen wird die Frage richtig gestellt: „Welche Verschiedenheiten zeigt ein und derselbe Most, wenn er unter sonst gleichen Verhältnissen durch die eine oder andere Hefepflanze allein oder durch ein Gemenge derselben vergärt?“ und Neubauer (1874) spricht sich in ähnlicher Weise aus, indem er sagt: „Ich kann den Gedanken nicht abweisen, daß die verschiedenen Hefespecies bei der Gärung auch verschiedene Produkte liefern müssen —“. Die gestellte Frage faßt, wie man sieht, eine ganze Reihe sehr verschiedener Möglichkeiten in sich; aber weder Bersch noch Neubauer gaben eine Anweisung auf die Beantwortung. Später hat Bersch, wie wir im Nachfolgenden sehen werden, seinen anfänglichen Standpunkt gänzlich verlassen.

Die Grundlage für die Entwicklung dieser wichtigen Problemen wurde, wie allgemein bekannt, auch nicht von Pasteur geschaffen. Dieser berühmte Forscher gelangte nicht dazu, wirkliche Reinkulturen darzustellen; es ist in seinen Werken von einer diesbezüglichen Methode gar nicht die Rede; bei allen seinen Versuchen ist er dem Zufall preisgegeben. Es war bei denselben niemals Sicherheit dafür, ob die durch solches Material gewonnenen Resultate auf die Thätigkeit einer einzigen oder mehrerer Arten zurückzuführen wären, und es war somit nicht ersichtlich, auf welchem Wege ein Fortschritt zu

---

1) Diese Zeitschr. Bd. III. 1897 No. 13/14 ff.

suchen wäre, auch nicht, ob durch das Arbeiten mit einzelnen Arten ein Fortschritt überhaupt erreichbar war. Pasteur giebt denn auch seinen Standpunkt deutlich an, z. B. p. 205, Fußnote, seiner „Études sur la bière“ (1876), wo er selbst einräumt, daß er nicht imstande ist, zu entscheiden, ob er eine oder mehrere Arten im Kolben habe; auch p. 224—228 in demselben Werke, wo er den Brauern verschiedene Verfahren zur Reinigung der Hefe empfiehlt und mit der Bemerkung schließt, daß es durch diese verschiedenen Kunstgriffe, jeden für sich oder kombiniert, in der Regel gelinge, die zu reinigende Hefe „in einem sehr reinen Zustande“ zu bekommen. Pasteur schlug vor, die Hefe mit Hilfe von Rohrzuckerlösung, Karbolsäure, Weinsäure u. s. w. zu reinigen, und dieselben Verfahren wurden später von Duclaux (1883) und von Velten empfohlen. Eine „Purifikation“ von ganz derselben Art war es, die Pasteur für die Hefe, welche zur Darstellung des viel-erwähnten „vin d'orge“ (Études sur la bière. p. 222—224) verwendet wurde, benutzte. Sein Verfahren ist folgendes: Die Weinhefe aus einem Fasse zeigt ein stark unregelmäßiges Bild, und die langgestreckten Zellen gehören — meint er — *Saccharomyces Pastorianus* an. Ein wenig von dieser Hefe wird in einen Ballon mit Zuckerwasser ausgesät; nach einigen Tagen wird die Flüssigkeit erneuert, und an den folgenden Tagen ergiebt die Untersuchung, daß die langgestreckten Zellen verschwunden sind; Pasteur zieht dann den Schluß, daß die Hefe nunmehr aus „la levûre ordinaire du vin, de *Saccharomyces ellipsoideus*“ bestehe, und meint, daß hier ein Beispiel von einer natürlichen Trennung der Hefearten vorliege, und er hat dann diese Hefe zur Darstellung seines Gersteweines verwendet. Wie man sieht, spricht Pasteur bloß von einer Ausscheidung des *Saccharomyces Pastorianus* — was aber, wie wir jetzt wissen, durch eine solche Behandlung in Wirklichkeit selten möglich sein wird — und er giebt nicht die geringste Andeutung von der Möglichkeit, daß mehrere Arten von Reess' *Sacch. ellipsoideus* existieren könnten. Das ganze Verfahren ist mit der größten Unsicherheit behaftet.

Es ist also bei Pasteur von Anwendung einer einzelnen Art nicht die Rede; die Sache befindet sich bei ihm noch immer auf demselben unklaren Standpunkte wie bei seinen Vorgängern. Pasteur behandelt *Sacch. ellipsoideus* als systematische Einheit — insofern er sich überhaupt um diese Frage bekümmert; denn sein oben genanntes Werk zeigt, daß botanische Untersuchungen ihm fernlagen; er macht bekanntlich sogar nicht den ersten Schritt zu einer wirklichen Analyse der Hefe, nämlich die Unterscheidung zwischen *Saccharomyceten* und *Nicht-Saccharomyceten*. Einige der französischen Nachfolger Pasteur's ziehen immer das oben angeführte Stück betreffend „vin d'orge“ in reklamenhafter Weise hervor, trotzdem jener „Reinigung“ ein durchaus falsches Prinzip zu Grunde liegt. Es ist allgemein bekannt, daß Hansen nachgewiesen hat, daß die von Pasteur vorgeschlagene chemische Reinigung der Hefe in den Brauereien sogar ein Ueberhandnehmen der Krankheitskeime bewirkte und eine Anwendung der Methode in dieser Praxis großes



Unheil im Betriebe anrichten könnte; ganz dasselbe wird auch mit dem Moste der Fall sein, wenn man bei der Behandlung der Weinhefe solche chemische Methoden befolgt. Mehrere deutsche Forscher haben daher auch mit Recht vor solcher Reklame gewarnt, da es unberechenbare Folgen nach sich ziehen kann, wenn man sich davon irreleiten läßt.

Kurz und gut: Die Frage, wilde Hefe im Gegensatze zu Kulturhefe war weder von Pasteur noch von seinen Schülern erkannt, und dasselbe gilt für die ebenso bedeutungsvolle Frage, ob die von Reess aufgestellten Arten, *Sacch. cerevisiae*, *S. ellipsoideus* u. s. w. als Einheiten zu betrachten seien oder nicht.

Pasteur's Verhältnis zur Weingärung ist in seinem obengenannten Werke p. 4 klar angegeben: „C'est pourquoi la vendange peut être abandonnée, sans inconvénient, à la fermentation spontanée“. Es ist also nach Pasteur's Auffassung eigentlich ganz überflüssig, irgend etwas mit der Weinhefe vorzunehmen; man kann den Most den vielen auf den Trauben befindlichen Keimen überlassen.

Mit Recht sagt daher auch Wortmann<sup>1)</sup>:

„Wenn nun die Hefe ein so notwendiges und wichtiges Etwas bei dem Werden des Weines ist, so sollte man meinen, daß man derselben auch von jeher die allergrößte Aufmerksamkeit zugewendet hätte. Aber gerade das Gegenteil ist der Fall. Während man auf der einen Seite allen Fleiß und alle Kunst verwendet, während man keine Mühe und keine Kosten scheut, um einen guten Most zu gewinnen, thut man von da ab nichts mehr, sondern überläßt {nun} den Most seinem Schicksale und wartet ab, was die Hefen zufällig aus ihm machen. Um die Hefen bekümmert man sich überhaupt nicht und handelt damit etwa so, wie ein Baumeister handeln würde, der die Aufgabe hat, aus vorzüglichem Material und bestbehauenen Steinen ein Haus zu bauen, wenn er die Ausführung des Baues beliebigen, unbekannten und unkontrollierten Arbeiten überlassen würde“; und weiter p. 5:

„Die großen Entdeckungen Pasteur's, nach welchen alle Gärungs-, Fäulnis- und Verwesungsvorgänge ausschließlich durch die Thätigkeit kleinster Organismen ausgeführt werden, sind zwar in wissenschaftlicher Beziehung von der weittragendsten Bedeutung gewesen, vermochten aber doch nicht auf die Praxis der Gärungsgewerbe irgendwie reformierend einzuwirken. Denn hierzu bedurfte es nicht bloß des Nachweises, daß die Ursache der alkoholischen Gärung in der Hefe zu suchen ist, sondern es mußten die Eigenschaften, Eigentümlichkeiten, die verschiedenen Wirkungen der Hefen erst aufgedeckt werden, m. a. W. es mußte erst gezeigt werden, daß es verschiedene Hefen giebt, ehe man überhaupt an eine praktische Ausnutzung dieser Errungenschaften denken konnte. Diese Nachweise sind aber erst in den 80er Jahren von E. Ch r. H a n s e n in Kopenhagen gebracht worden; und die ausgezeichneten Untersuchungen dieses Forschers haben auch zugleich die Grundlage geschaffen, von welcher aus alle Zweige der Gärungsgewerbe neuen Umschwung und Aufschwung erfahren haben.“

1) Anwendung und Wirkung reiner Hefen in der Weinbereitung. Berlin 1895.

Wenn wir Bersch's, von Dr. Behrens' citierte Aeußerungen aus dem Jahre 1871 mit seinen späteren Aussprüchen ergänzen, so finden wir, daß sein wirklicher Standpunkt ein ganz anderer ist, als wir nach dem erstgenannten Citate glauben möchten.

In seinem Lehrbuche „Die Krankheiten des Weines“ (1873) p. 124, sagt er:

„Ueberhaupt ist die Frage bezüglich der Gestaltsverhältnisse der Fermente bis zur Stunde noch eine offene: während einige Forscher geradezu alle Fermente als verschiedene Entwicklungsformen ein und derselben Pflanze bezeichnen, nehmen andere sogar bestimmte Arten ein und desselben Fermentes an und erklären z. B. den in Bierwürze lebenden Gärungspilz, den im Weinmost wuchernden, jenen welcher die Nachgärung verursacht u. s. w. als besondere Arten gewisser Pflanzengattungen“.

Bersch betrachtet also jetzt die Reess'schen Arten als sehr problematische Größen. Und in seinem Handbuche „Die Hefe und die Gärungserscheinungen“ (1879) p. 332 sagt er:

„Die Erfahrung lehrt, daß es bis nun kein Mittel giebt, Hefe oder irgend ein anderes Ferment in solcher Form zu erhalten, daß wir mit Sicherheit sagen könnten: außer der Alkoholgärungspflanze sei kein anderer Organismus in der gesamten Hefemasse anzutreffen“. Der Verf. behandelt hier die Frage betreffs der reinen Bierhefe. Für die Weinhefe hatte er schon im Jahre 1878 den Rat erteilt, die unreine Hefe, wie man sie auf der Oberfläche der Weinbeeren antraf, anzuwenden und nur Sorge zu tragen, daß sie schnell zur Entwicklung kam.

Wir ersehen aus diesen Citaten, daß dieser Autor in der That ganz auf Pasteur's Standpunkte steht; mit reiner Hefe meint er eine Hefe, welche nur aus Alkoholhefenzellen besteht. Die Alkohol-Gärungspflanze“, „Der Weingärungspilz“, „das Alkoholferment der Biergärung“ bilden jetzt für ihn eine Einheit. Da Pasteur's Versuche keinen Eingang in der Praxis fanden, versucht Bersch, das Verfahren zu verbessern; das Prinzip bleibt jedoch das gleiche; nur will Bersch statt Pasteur's verschiedenen Säuren Alkohol verwenden. Er hat den Glauben an die Reess'schen Arten vollständig aufgegeben und denkt nicht daran, auf botanischem Wege selbst die Aufklärung der Frage zu erstreben. Seine oben citierte Aeußerung (v. J. 1871) war also bloß ein Einfall, ein unklarer Gedanke, in welchen er selbst keine tiefere, ernstliche Bedeutung legte, und den er deshalb sofort aufgegeben hat. —

Diese wenigen Beispiele, welche mit mehreren anderen sich ergänzen ließen, zeigen deutlich, daß bis zu dem genannten Zeitpunkte keine Einigkeit darüber herrschte, welche Prinzipien die richtigen seien; man hatte wohl, wie Nägeli sagt, auf die meisten Möglichkeiten geraten, aber welche war die richtige? — Es fehlte noch gänzlich eine wissenschaftliche Grundlage. Diese wurde vom Jahre 1883 an von Hansen entwickelt, indem er von ganz neuen Gesichtspunkten für die Artcharaktere ausging, vermittelst welcher er schon in dem genannten Jahre mit Sicherheit nachweisen konnte, daß unter den von Reess aufgestellten Arten sich

eine ganze Schar verbarg; gleichzeitig schied er die Krankheitshefen des Bieres von den Kulturhefenarten aus. Diese Entdeckungen in Verbindung mit der Ausarbeitung einer exakten Reinzucht-methode führten ihn zu der Lehre von der Auswahl unter den Arten und zur ausgedehnten Anwendung besonderer, zweckdienlicher Arten, und hiermit war zum ersten Male ein System gegründet, welches in der Wissenschaft wie in der Praxis eine neue Epoche einleitete.

Der erste, welcher die Frage betreffs der Anwendung des neuen Systems auf die Weingärung einer wissenschaftlichen Behandlung unterwarf, war der französische Zymotechniker L. Marx (1888), der die Methoden in Hansen's Laboratorium studiert hatte und auf die Aufforderung seines Lehrers die ersten Versuche über die Anwendung ausgewählter reingezüchteter Rassen in der Weingärung vornahm.

Von den obengenannten Arbeiten Hansen's ist also die ganze Bewegung, auch für die Weingärung, ausgegangen und Wortmann sagt daher mit Recht, daß Hansen's Untersuchungen „die Grundlage geschaffen haben, von welcher aus alle Zweige der Gärungsgewerbe neuen Umschwung und Aufschwung erfahren haben“.

Ein aufmerksamer und mit der einschlägigen Litteratur vertrauter Leser wird aus Dr. Behrens' Abhandlung in allem Wesentlichen dieselben Anschauungen, welche ich hier zum Ausdruck gebracht habe, herauslesen können. Denjenigen Lesern gegenüber, welche in der betreffenden Litteratur bewandert sind, werden meine hier gegebenen Erörterungen insoweit fast überflüssig sein; da aber nicht vorausgesetzt werden darf, daß die Mehrzahl der Leser mit dieser umfangreichen Literatur so vertraut sind, und da Dr. Behrens, wie mir scheint, an mehreren Stellen seiner Darstellung etwas verschwommene Umrisse giebt, habe ich es für ersprießlich angesehen, diese Ergänzung zu geben, weil sonst viele Leser eine falsche Vorstellung von der Sache erhalten würden. Weniger glücklich ist es auch, daß Hansen's Werke, welche doch auf diesem Gebiete den Ausgangspunkt der neuen Epoche bilden, erst nach der ganzen Darstellung in einer kleinen Anmerkung unter dem Texte citiert werden. Betrachtet man aber Dr. Behrens' Abhandlung von dem Gesichtspunkte aus, daß es für ihn die Hauptsache war, zu zeigen, wie die nachfolgende Entwicklung speziell in Deutschland stattgefunden hat, muß es anerkannt werden, daß man seine Darstellung mit wahrer Ausbeute liest.

---

*Nachdruck verboten.*

## Die Reinhefe in der Weinbereitung.

Von

Dr. H. Becker

in

Frankfurt a. M.

Unter der gleichen Ueberschrift erstattete in den letzten Heften des Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. 1897. No. 15—18 Herr Dr. Behrens-Karlsruhe einen zusammenfassenden Bericht über die Arbeiten anderer Autoren auf diesem Gebiete.

Solche Zusammenstellungen haben einen unverkennbaren Wert, wenn sie möglichst weit umfassend sind, auf gründlicher Sachkenntnis und wo nötig auf zuverlässiger Erkundigung beruhen und wenn sie dabei einen gewissen Grad von Objektivität erkennen lassen, der für alle Autoren gleich bleibt, über deren Arbeiten berichtet wird.

In oben erwähnter Veröffentlichung ist dies nicht der Fall. Nachdem der Herr Verf. mit größter Liebe und Sorgfalt über einige Arbeiten anderer Forscher berichtet hat, thut er eine Broschüre<sup>1)</sup>, die s. Z. von mir verfaßt wurde, kurzer Hand ab, indem er sie in das Gebiet der Geschäftsreklame verweist und jeglichen wissenschaftlichen Wertes zu entkleiden sucht. Ich sehe mich deshalb zu einer gebührenden Richtigstellung veranlaßt.

Es ist bekannt, daß Müller-Thurgau zuerst über die Verwendung reingezüchteter Weinhefen berichtet hat und daß er dabei den zweifellos richtigen Weg für seine Veröffentlichungen wählte, als er über seine Studien und praktischen Versuche sehr bald auch auf den Versammlungen des Deutschen Weinbau-Vereines Vorträge hielt. Auf diese Weise wurde das Interesse der Weinproduzenten schon zeitig wachgerufen, so daß sich dieselben verhältnismäßig rasch zur Vornahme von praktischen Gärversuchen entschlossen. Da diese Versammlungen u. a. den Zweck haben, immer mehr Aufklärung und Belehrung in den weinbauenden Kreisen zu verbreiten und daher möglichst viel Weinproduzenten, von denen doch der weitaus größere Teil aus einfachen landwirtschaftlichen Kreisen stammt, herangezogen werden, so ist es eine sachgemäße Gepflogenheit geworden, die Vorträge und sonstigen Veröffentlichungen, welche bei solchen Versammlungen stattfinden, in möglichst populärer Form zu halten.

Unter dieser Voraussetzung wurde auch die von Behrens erwähnte Broschüre verfaßt. Es wurde absichtlich nur das praktische Ergebnis der in der gärungsphysiologischen Abteilung unseres Institutes ausgeführten Untersuchungen angegeben, während die Auf- führung großer Tabellen u. dgl. vermieden wurde. Es genügte, einzelne Beispiele herauszugreifen, um dem einfachen Manne sowohl,

1) „Ueber die Verwendung reingezüchteter Hefen im Gärungsprozeß. II.“ Ich bemerke dabei, daß „No. I“ als Abdruck eines Vortrages erschien, welchen ich am 2. Okt. 1893 im Klub für Landwirte in Frankfurt a. M. gehalten habe.

Bezeichnung der Hefe	Name	No.	Bezeichnung des verwendeten Mostes			Analyse nach Monaten	Der mit der Hefe vergorene Wein zeigte					Jahr der Untersuchung
			Herkunft	Zucker- gehalt	Säure		Alkohol	Freie Säure (Wein- säure)	Flüchtige Säure (Essig- säure)	Fixe Säure	Glycerin	
				Proz.	Proz.							
Kreuznach		59	Kreuznach	20,0632	0,6750	2	9,84	0,6750	0,0384	0,6270	0,5306	1898/94
"		65	"	"	"	"	10,00	0,8900	0,0168	0,8690	0,4881	"
"		92 b	"	"	"	"	9,67	0,6750	0,0444	0,6195	0,5591	"
Raenthal		15	Nierstein	21,6320	0,6484	"	10,49	0,5205	0,0386	0,5625	0,8796	"
"		75	"	"	"	"	10,58	0,5475	0,0120	0,5625	1,0184	"
Ahrweiler		81	Ahrweil	17,7012	0,9675	"	8,29	1,0125	0,1176	0,8655	0,2732	"
Schloß Vollrads		8	Gaibickelheim	21,7885	0,6165	"	10,08	0,5525	0,0372	0,4860	0,7366	"
"		9	"	"	"	"	10,33	0,5100	0,0456	0,4530	0,5940	"
Sauterne		22	Hochheim	23,607,4	0,7510	"	11,06	0,7275	0,0564	0,6570	1,0942	"
"		23	"	"	"	"	10,16	0,7350	0,0552	0,6660	0,7789	"
Rüdesheim		69	"	"	"	"	9,10	0,7550	0,0192	0,7110	0,8560	"
"		70	"	"	"	"	9,76	0,7925	0,0588	0,7190	0,7902	"
"		72	"	"	"	"	11,72	0,7425	0,0372	0,6960	1,0483	"
Dürkheim		89 a	Dürkheim	22,6000	0,5425	"	10,98	0,5400	0,0168	0,5190	0,8492	"
"		89 b	"	"	"	"	11,15	0,5475	0,0444	0,4920	0,7500	"
Markobrunn		7	"	"	"	"	10,98	0,5250	0,0192	0,5010	0,8839	"
"		36	"	"	"	"	10,98	0,5100	0,0800	0,4725	0,7951	"
"		39	"	"	"	"	10,89	0,5550	0,0408	0,5040	1,0089	"
Johannisberg		50	Ober-Ingelheim	18,4003	0,7525	"	9,84	0,7800	0,0636	0,7005	0,3723	"
Ober-Ingelheim		1	"	"	"	"	9,02	0,7125	0,0312	0,6785	0,4360	"
"		42	"	"	"	"	9,02	0,7125	0,0232	0,6810	0,7886	"

Wüzburg	Wüzburg	19,6283	0,6680	2	9,43	0,7135	0,0108	0,6615	0,5506	1893/94
68	"	"	"	"	9,43	0,6600	0,0264	0,6270	0,4642	"
62	"	"	"	"	9,67	0,6750	0,0312	0,6360	0,3901	"
61	"	"	"	"	9,35	0,6450	0,0313	0,6060	0,4898	"
54	"	"	"	"	9,92	0,6150	0,0372	0,6585	0,2452	"
55	"	"	"	"	9,59	0,6000	0,0328	0,5715	0,3344	"
102	Portwein	34,3525	0,6375	"	14,36	0,6825	0,1065	0,5760	0,5630	"
79	Leessy	31,7380	0,6675	"	10,49	0,6070	0,0480	0,5470	0,4651	"
80 c	Cramant	"	"	"	10,49	0,6220	0,0190	0,5980	0,5215	"
84 a	Maily	"	"	"	10,16	0,6000	0,0210	0,5730	0,4084	"
86 d	Verzenal	"	"	"	10,66	0,6150	0,0120	0,6000	0,4269	"
97 a	Avize	"	"	"	10,81	0,5700	0,0400	0,5190	0,6162	"
101 a	Sherry	22,7500	0,8700	9	10,98	0,8850	0,0468	0,8265	0,5516	1894/95
101 b	"	"	"	"	10,58	0,8550	0,0348	0,8115	0,5590	"
108	San Vito	"	"	"	11,38	0,8775	0,0396	0,8280	0,5988	"
7	Markobrunn	"	"	"	10,08	0,8250	0,0180	0,8025	0,7434	"
120	Enländer	"	"	"	10,81	0,9225	0,0516	0,8580	0,4590	"
99	Span. Rotwein	"	"	"	10,49	0,8550	0,0300	0,8175	0,5444	"
103	Chablis	"	"	"	11,23	0,9000	0,0564	0,8295	0,5226	"
150	Portwein	35,00	0,6200	2 1/2	12,88	0,4500	0,0372	0,4035	—	1895/96
149	"	"	"	"	13,44	0,4575	0,0348	0,4140	—	"
101 a	Sherry	"	"	"	13,78	0,4650	0,0252	0,4335	—	"
101 b	"	"	"	"	13,49	0,6075	0,0456	0,5505	—	"
145	"	"	"	"	15,36	0,4650	0,0732	0,3635	—	"
146	"	"	"	"	15,10	0,5100	0,0456	0,4530	—	"
125	Mosel	"	"	"	11,23	0,5775	0,0120	0,5625	—	"
128	Trollinger	"	"	4	14,11	0,5250	0,0132	0,5085	—	"
135	Meersburg	"	"	"	14,89	0,5250	0,0360	0,4800	—	"
136	Waadland	"	"	"	8,53	0,5335	0,0348	0,4890	—	"
144	Kreuznach	"	"	"	12,46	0,4650	0,0168	0,4440	—	"

wie auch dem wissenschaftlich Gebildeten, den Kern der Sache darzuthun.

Und in der That hatte ich, als mein Institut die Broschüre im Jahre 1894 auf dem Deutschen Weinbau-Kongreß in Mainz zur Auslage brachte, die Genugthuung, zu sehen, daß ich bei meinen Arbeiten unabhängig von Herrn Dr. Wortmann fast durchweg zu den gleichen Ergebnissen gelangt war. Ich habe dies in der mündlichen Verhandlung, welche sich an Herrn Dr. Wortmann's Vortrag anschloß, ausdrücklich hervorgehoben (cf. Bericht über die Verhandlungen des XIII. deutschen Weinbau-Kongresses zu Mainz, im Sept. 1894. p. 73), und diese Feststellung blieb auch unwidersprochen.

Wenn also die Schrift heute oder auch schon im Jahre 1895, wie Herr Dr. Behrens annimmt, nichts Neues mehr bringt, so hat sie dies doch bei ihrem Erscheinen im Jahre 1894 in der That gethan, denn sie erschien in der Oeffentlichkeit, noch ehe Herr Dr. Wortmann in seinem Vortrage meine Befunde bestätigte.

Herr Dr. Behrens fühlt sich „eigenthümlich berührt“ von der mitgetheilten Eigenschaft der Reihenen, Essigsäure in verschiedenen Mengen zu bilden, wie ich dies p. 4 u. 5 meiner Schrift angebe. Es scheinen also dem Herrn Verf. jener Kritik die Arbeiten von Pasteur, Béchamp und Duclaux unbekannt zu sein, nach welchen bei der reinen alkoholischen Gärung neben Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure, selbst bei vollständigem Abschluß von Sauerstoff und in einer Kohlensäureatmosphäre, stets geringe Mengen von Essigsäure gebildet werden.

Meine Schrift bietet mithin selbst im Jahre 1897 für Manchen doch noch etwas Neues, und damit erkennbar werde, auf welcher umfassenden eigenen Ermittlungen meine damaligen Angaben beruhen (es handelt sich im ganzen um mehrere hundert Analysen), so will ich hier die Zusammenstellung eines Theiles jener Untersuchungen folgen lassen, welche ich in Gemeinschaft mit meinem Assistenten, Herrn Carl le Dous, vom Herbst 1893 bis zu jener Veröffentlichung ausgeführt habe. Außerdem füge ich noch einige zahlenmäßige Ermittlungen aus den Jahren 1895 und 1896 an, welche die früheren Befunde bestätigen.

Es wurde jeweils eine größere Menge eines und desselben Mostes in verschiedene Flaschen gegeben, sterilisiert, auf Keimfreiheit geprüft, jede Flasche mit einer gleich großen Menge Reihene verschiedener Rasse geimpft und mit einem Gärspond verschlossen. Nach der in der Tabelle verzeichneten Zeit wurden die Flaschen geöffnet, die Hefe wieder auf ihre Reinheit geprüft und der Flascheninhalt einer chemischen Untersuchung unterworfen. Das Ergebnis derselben war (s. Tabelle p. 668 u. 669):

Eine besondere Erklärung hierzu ist nicht erforderlich.

Wenn sich nun schließlich Herr Dr. Behrens an meiner Versicherung stößt, daß im Institute von Popp & Becker in Frankfurt a. M. Vorkehrungen getroffen seien, „daß wir von eingesandten Trauben und Mosten sehr rasch die geeignetsten Heferassen rein züchten können etc.“ und wenn er daran die Bemerkungen knüpft: „Eine Reihene zu züchten gelingt freilich sehr rasch; die geeignetste sehr rasch herauszufinden, ist wohl Fabriksgeheimnis. Dem nicht

Eingeweihten erscheint eben dieser Punkt als der schwierige und unter Umständen erst nach Jahren zu erledigende“, so hat er darin ganz recht.

Es ist in der That eine durch jahrelangen Fleiß errungene Erfahrung, nach welcher wir die Arbeitsmethoden und Versuchsanordnungen so wählen, daß das Auffinden der geeignetsten Heferassen verhältnismäßig rasch geht. Derartige Erfahrungen, deren Bethätigung und Ergebnisse doch immer noch von dem Können des Einzelnen abhängig sind, in jener Schrift zu veröffentlichen, lag kein Anlaß vor und erscheint uns auch heute noch nicht opportun.

*Nachdruck verboten.*

## Die Reinhefe in der Weinbereitung.

Von

Dr. J. Behrens (Karlsruhe).

Unter der Ueberschrift „Die Reinhefe in der Weinbereitung“<sup>1)</sup> wendet sich Herr Dr. Becker-Frankfurt vorstehend gegen einen von mir verfaßten historischen Ueberblick über „die Reinhefe in der Weinbereitung“, der in den No. 15—18 des Centralblattes erschienen war. Herr Dr. Becker wirft mir vor, daß meine Zusammenstellung weder auf gründlicher Sachkenntnis beruhe, noch den wünschenswerten und absolut notwendigen Grad von Objektivität erkennen lasse. Dieser letztere Mangel wird dadurch bewiesen, daß ich eine Broschüre Becker's (Ueber die Verwendung reingezüchteter Hefen im Gärungsprozeß. II.) jedes wissenschaftlichen Wertes zu entkleiden und als eine bloße Reklameschrift hinzustellen gesucht habe.

Zu diesen schweren Vorwürfen bemerke ich Folgendes:

Bezüglich meiner Sachkenntnis überlasse ich das Urteil ruhig meinen Fachgenossen. Gegenüber Becker darf ich mich wohl auf den Schlußsatz der Ergänzung beziehen, die Joergensen in dieser Nummer zu meinem Aufsätze geliefert hat<sup>2)</sup>.

Anders ist es dagegen mit dem Vorwurf mangelnder Objektivität, den mir Becker macht. Der Mangel soll darin bestehen, daß ich seine Priorität ganz verkenne und ignoriere. Becker schreibt wörtlich: „Wenn also die Schrift heute oder auch schon im Jahre 1895, wie Herr Dr. Behrens annimmt, nichts Neues mehr bringt, so hat sie dies doch im Jahre 1894 in der That gethan, denn sie erschien in der Oeffentlichkeit, noch ehe Herr Dr. Wortmann in seinem Vortrage meine Befunde bestätigte.“ Wortmann hat also danach nur die Entdeckungen und Befunde Becker's bestätigt; Becker gebührt die Priorität und das gesamte Verdienst.

Becker kennt von Müller-Thurgau's und Wortmann's Publikationen augenscheinlich nur deren Vorträge auf den General-

1) Bezüglich ihrer Identität mit der von mir gewählten befindet sich der Herr Verf. im Irrtum!

2) Joergensen, Ein historisches Supplement zu Dr. J. Behrens' Abhandlung: „Die Reinhefe in der Weinbereitung“.



versammlungen des Deutschen Weinbauvereins. Seine erste Broschüre über die Reinhefe, die mir unbekannt geblieben ist, ist nach seinen eigenen Angaben der Abdruck eines am 2. Oktober 1893 gehaltenen Vortrages, die zweite, die mir allein vorlag, ist 1894 erschienen. Dagegen erschien Wortmann's grundlegende Arbeit schon 1892 in den landwirtschaftlichen Jahrbüchern<sup>1)</sup>. In demselben Jahre sowie 1893 berichtet Wortmann in der Zeitschrift Weinbau und Weinhandel über Anwendung und Erfolge in der Praxis. In der Generalversammlung des Deutschen Weinbauvereins zu Neuenahr, Mitte September 1893, hielt Aderhold, der damalige Assistent Wortmann's, im Auftrage des letzteren einen Vortrag über die Verwendung und Bedeutung reiner Hefen in der Weinbereitung. Alles das war vor Becker's erster Publikation. Dementsprechend kann von einer Priorität Becker's, von einer Bestätigung seiner Resultate durch Wortmann's Untersuchungen überhaupt keine Rede sein. Dieser Anspruch berührt vielmehr geradezu komisch und ist um so sonderbarer, als alle die aufgeführten Publikationen in meiner Zusammenstellung entsprechend erwähnt sind. Herr Becker scheint also nicht nur von der Litteratur über die reinen Weinhefen, sondern auch von meinem Aufsatz, dessen Inhalt ihn so sehr entrüstet, nur eine sehr beschränkte Kenntnis zu haben.

Mit den Ansprüchen des Herrn Becker auf den Ruhm des ersten Entdeckers ist es also nichts. Leider muß ich ihm auch die Freude verkümmern, die er darüber empfindet, daß ich aus seiner Broschüre doch noch etwas habe lernen können, nämlich die Tatsache, daß Weinhefen Essigsäure bilden. Herr Becker ist sehr erstaunt und entrüstet, daß ich die einschlägigen Arbeiten Pasteur's, Béchamp's und Duclaux's nicht kenne; nur diese bemitleidenswerte Unwissenheit macht es ihm verständlich, daß ich mich durch die p. 4 und 5 seiner Schrift angeführte Eigenheit seiner Reinhefen, Essigsäure in verschiedener Menge zu bilden, „eigentlich berührt“ fühle. Becker ist das Malheur passiert, daß er sich da auf Arbeiten berufen hat, bei denen die Reinheit der „Hefe“ zum Teil ungewiß und unkontrollierbar, zum Teil aber sicher gar nicht vorhanden war. Er hätte besser gethan, neuere und einwandfreiye Arbeiten, z. B. die von Kayser sowie von Kruis und Raymann, heranzuziehen. Aus diesen würde er aber ersehen haben, daß von einem Nachweis der Essigsäure als Stoffwechsel- oder Gärprodukt von Alkoholhefen keine Rede sein kann. Höchstens kann man von der Bildung flüchtiger Säuren bei der Alkoholgärung sprechen; diese werden wohl meist als Essigsäure berechnet, damit ist ihre Identität mit Essigsäure aber durchaus nicht bewiesen. Daß ich auch in dieser Beziehung nicht so ganz unwissend bin, geht wohl daraus hervor, daß ich (p. 487) die starke Produktion flüchtiger Säuren als Eigenheit von Apiculatushefen nach Müller-Thurgau gebührend hervorhebe.

Was endlich meine kritische Bemerkung zu der Stelle der Becker'schen Broschüre anlangt, worin gesagt wird, daß im Institute von Popp und Becker in Frankfurt a. M. Vorkehrungen getroffen seien,

1) Durch ein bedauerliches Uebersehen ist in dem Citat unter dem Text in meinem Aufsätze (p. 363) der Druckfehler 1893 stehen geblieben; im Text steht richtig 1892.

„daß wir von eingesandten Trauben und Mosten sehr rasch die geeignetsten Heferassen reinzüchten können etc.“, so bestätigt ja Herr Becker jetzt in wünschenswertester Weise ausdrücklich meine Vermutung, daß es sich hier um ein Fabrikgeheimnis handelt. Es bleibt mir also nur übrig, Herrn Dr. Becker zu dem Besitze dieses Geheimnisses von Herzen Glück zu wünschen und zugleich im Interesse der Wissenschaft zu bedauern, daß er seine Entdeckung den Fachgenossen vorenthält. Wenn auch nicht mir, so könnte Herr Becker doch vielleicht anderen Fachgenossen die Fähigkeit zutrauen, derartige, durch jahrelangen Fleiß errungene Erfahrungen zu bethätigen, um den Ausdruck des Herrn Becker zu gebrauchen, die Sache nachzuprüfen, um mich deutlicher auszudrücken. Ich kann aber nicht umhin, auf eine geringe, vielleicht auch ganz bedeutungslose Veränderung des Textes aufmerksam zu machen. Früher, in der Broschüre, hieß es, daß Popp und Becker von eingesandten Trauben und Mosten „sehr rasch“ die geeignetsten Heferassen rein züchten können; jetzt in der Entgegnung, geht das Auffinden der geeignetsten Heferassen nur noch „verhältnismäßig rasch“.

Die Entgegnung des Herrn Becker kann mich also nicht überzeugen, daß ich mit meiner Auffassung seiner Broschüre als einer wissenschaftlich wertlosen Reklameschrift einen Irrtum begangen habe. Im Gegenteil bin ich in dieser Ansicht nur noch bestärkt. Vielleicht aber hätte ich bei meiner historischen Betrachtung besser gethan, dieser Ansicht entsprechend die Schrift Becker's ganz auszuschließen, sie keiner Beachtung zu würdigen.

Ich wende mich dem historischen Supplement zu, das Joergensen meinem Aufsätze hinzugefügt hat. Joergensen ist, wie ich mit Freuden feststellen kann, im wesentlichen mit meiner Darstellung einverstanden. Er tadelt nur Einzelnes, und speziell glaubt er, daß ich die Arbeiten von Reess und Pasteur zu hoch einschätze.

Das wird nun stets Geschmackssache bleiben. Ich habe die Abhandlung von Reess eine grundlegende genannt, weil in ihr zum erstenmal der Versuch gemacht ist, die Gattung *Saccharomyces* artlich zu gliedern. Dagegen wendet Joergensen ein, daß Reess nicht mit Reinkulturen gearbeitet und seine Gliederung nach falschen Prinzipien vorgenommen habe. Beides ändert meiner Ansicht nach an der grundlegenden Bedeutung der Arbeit, die ich übrigens selbst als „heutzutage längst überholt“ bezeichne, nichts. Ich erkenne keinen Augenblick, daß der heutige Standpunkt der Hefefrage auf der Hansen'schen Reform beruht. Daß erst Hansen mit Sicherheit reine Hefen züchten lehrte, ist übrigens auch (p. 357) direkt gesagt, und darin liegt, auch wenn es nicht direkt ausgesprochen ist, doch als selbstverständlich auch die Anerkennung, daß wir die heute maßgebende Gliederung der Gattung *Saccharomyces* den Forschungen Hansen's verdanken.

Mir schien ferner und scheint es noch heute von Interesse, daß schon an die ersten ungenügenden Versuche, Ordnung in das Chaos „Hefe“ zu bringen, sich besonders bei Männern, welche der Praxis näher standen, Bestrebungen knüpfen, welche dem Grundgedanken der von Hansen inaugurierten Reform der Gärungstechnik sehr

nahe kommen. Daher citierte ich die entsprechenden Äußerungen von Reess, Bersch und Neubauer, knüpfte daran aber sofort die Bemerkung, daß dieselben unfruchtbar blieben und bleiben mußten, weil die Mittel zur Isolierung der von Reess unterschiedenen Hefenarten fehlten. Daß Bersch später seine Ansichten geändert hat, war für meinen Zweck gleichgiltig; mich interessierte nur der von ihm im Jahre 1871 eingenommene Standpunkt.

Daß Pasteur wirklich mit Hilfe seiner Methoden Reinkulturen erhalten hat, halte ich heute noch für sicher. Aber es war und ist ganz unmöglich zu entscheiden, ob ihm im Einzelfalle eine Reinkultur vorlag oder nicht, und es war ebenso unmöglich, mit seinen Methoden zielbewußt eine Hefe zu isolieren. Ich nenne deshalb seine Methoden „höchst unvollkommen und unsicher“. Ich glaube, daß ich mich hier in völliger Uebereinstimmung mit Joergensen befinde, der das Verfahren Pasteur's mit der größten Unsicherheit behaftet findet.

Uebrigens giebt ja Joergensen auch selbst zu, daß ich im Grunde denselben Anschauungen Ausdruck gegeben habe, wie er selbst. Damit wird eine ausführliche Erwiderung meinerseits überflüssig. Ich möchte nur noch betonen, daß ich (p. 357) meine Aufgabe ausdrücklich auf die Geschichte der Anwendung und Züchtung reiner Weinhefen in Deutschland beschränkt habe.

---

*Nachdruck verboten.*

## Erwiderung

von

Dr. H. Becker.

Die vorstehende Erklärung des Herrn Dr. Behrens auf die Bemerkungen hin, welche ich zu einer mich betreffenden Stelle seines historischen Ueberblickes über „die Reinhefe in der Weinbereitung“ gemacht habe, veranlaßt mich, in dieser Sache nochmals das Wort zu ergreifen, um die durch willkürlich falsche Auslegungen begründete Kritik gebührend zurückzuweisen.

Es lag und liegt mir absolut ferne, die Verdienste Prof. Wortmann's und anderer Forscher um die Reinhefe schmälern und eine mir nicht gebührende Priorität für mich in Anspruch nehmen zu wollen. Ich darf aber wohl wiederholt behaupten, daß die in meiner Broschüre 1894 gegebenen Mitteilungen über die Beobachtungen bei der Verwendung und Auswahl reiner Hefen damals einige neue Bestätigungen früher von Anderen ausgesprochener Vermutungen brachten und Hinweise gaben, die auch heute noch ihren Wert nicht verloren haben. Die Frage der Bildung von Essigsäure durch Hefen will ich an dieser Stelle nicht nochmals diskutieren.

Die übrigen Punkte der Behrens'schen Erwiderung zu berühren, verbietet mir der Ton dieser Expektorationen und die Achtung, welche ich vor diesem Blatte und den Fachgenossen habe.

## Referate.

**Schröter, C.**, Die Schwebeflora unserer Seen (das Phytoplankton). (99. Neujahrblatt der Naturforsch. Gesellsch. in Zürich. 1897. Zürich 1896. p. 57. Mit 1 Taf.)

Die modernen Planktonuntersuchungen besitzen nicht nur eine große Wichtigkeit für die Biologie, sondern fördern auch unsere Kenntnisse von der „Oekonomie der Wasserbecken“. Sie sind von nicht zu unterschätzender Bedeutung für die angewandte Bakteriologie, und so muß die Arbeit, welche zum größten Teil mit den allgemeinen Fragen der Planktonuntersuchungen sich befaßt, auch hier besprochen werden. In den einleitenden Worten werden zunächst die „Ufergestaltung und die Vegetationsverteilung eines Sees“ im allgemeinen besprochen. Eine schematische Zeichnung, entnommen einer früheren Arbeit, die Verf. mit Kirchner über die Vegetation des Bodensees herausgab, ermöglicht eine eingehendere Uebersicht der hier in Betracht kommenden Gegenstände.

Die Bestandteile der Seeflora teilt der Verf. ein in: 1) Phyto-Benthos oder die Bodenflora, 2) Pleuston oder die Schwimmflora (eine vom Verf. eingeführte Benennung), 3) Phyto-Plankton oder die Schwebeflora. — Vom allgemeinen Interesse ist die Tabelle, aus der „die Periodicität der Planktophyten im Laufe eines Jahres“ zu ersehen ist; eine Zusammenstellung der von verschiedenen Forschern in vielen Seen, wie vom Verf. selbst (für den Zürichsee) erlangten Ergebnisse. — Einem ähnlichen Zwecke dient eine zweite Tabelle über „die Zusammensetzung des Phytoplanktons im Zürichsee 1896“. Es findet sich derselben zum Vergleiche beigesellt, eine von J. A. Forel entworfene Uebersicht des Phytoplanktons vom Genfersee 1896. Als neu vom Verf. aufgestellte Species sind zu nennen: eine Chytridiacee *Phlyctidium tabellariae* C. Schröter, welche die Diatomacee *Tabellaria fenestrata* (Lyngbye) Kütz. befällt und eine Grünalge *Celastrum cambricum* Archer var. *elegans* C. Schröter.

A. Maurizio (Zürich).

**Benecke, W.**, Die Bedeutung des Kaliums und des Magnesiums für Entwicklung und Wachstum des *Aspergillus niger* v. Th. sowie einiger anderer Pilzformen. (Botan. Ztg. 1896. I. Abt. Heft 6).

Verf. stellt sich die Aufgabe, durch eine Reihe von Kulturversuchen einen weiteren Beitrag zur Kenntnis der Mineralsalz-Bedeutung für pflanzliche Organismen, und speziell Pilze, zu liefern. Vor Eintritt in den speziellen Teil, wo Fehlerquellen und Kulturresultate erörtert werden, giebt derselbe eine kurze Darlegung seiner allgemeinen Resultate, die seines Erachtens darauf hinauslaufen, daß „eine vollständige Nährlösung für Schimmelpilze und verwandte Organismen Kalium und Magnesium enthalten muß“, ohne sich übrigens zu verhehlen, daß einer uneingeschränkten Gültigkeit dieses Ausspruches noch gewisse Bedenken entgegenstehen.

Auf das umfangreiche Detail und die am Schlusse zusammengestellten Einzelversuche kann hier nur kurz hingewiesen werden; eine richtige Vorstellung davon läßt sich im Rahmen eines kurzen Referates nicht geben. Es setzt ein richtiges Urteil über den Grad der Zulässigkeit der gezogenen Folgerungen ein genaueres Durchlesen der Arbeit voraus. Nur einige Hauptpunkte seien hier hervorgehoben.

Hinsichtlich des „Kaliums“ ergaben die Versuche, daß bei Abwesenheit dieses Elements immer nur eine sehr dürrtige Vegetation (des *Aspergillus*) auftrat, die durch Zusatz von etwas Kaliumsalz alsbald eine gute Entwicklung aufnahm. Reaktion und Konzentration scheinen hier aber schon mitzusprechen. Ähnlich waren dann weiterhin die Resultate bezüglich des Magnesiums.

Die seiner Zeit vom Ref. geäußerten Ansichten werden vom Verf. mehrfach näher erörtert, die Kritik ist aber nicht immer eine glückliche, indem Verf. eben die besondere, von der seinigen abweichende, Fragestellung der Arbeit des Ref. übersieht; die „Nährfähigkeit von Natriumsalzen“ ist etwas anderes als die „Funktion des Kaliums“. Auf diese Dinge näher einzugehen liegt jedoch nicht im Interesse des Lesers; hier spielen Anschauungen mit. Naturgemäß dürfen aber nicht Mißverständnisse Ausgangspunkt von Erörterungen sein.

Für denjenigen, welcher sich nicht damit begnügt, einfach die von einem Experimentator aus einer Versuchsreihe gezogenen Folgerungen „anzuerkennen“, sind nach Meinung des Ref. zwei Punkte nicht ohne Interesse, da sie den heutigen Stand der Mineralsalzfrage immerhin beleuchten. Der eine ist der, daß Verf. nunmehr bezüglich des Lithiums zu Resultaten kommt, die seine früheren — indem er die damals beobachtete und ausdrücklich hervorgehobene Giftwirkung desselben nicht wieder konstatieren konnte — aufheben. Diese Tatsache sollte doch schon zu einer möglichst vorsichtigen Beurteilung auch abweichender Versuchsergebnisse Anderer auffordern. Der zweite ist der, daß Verf. gegen früher denn nunmehr doch auch eine wesentlich kritischere Beurteilung der ganzen Sachlage Platz greifen läßt. So wirft er u. a. die Frage auf, ob die für gewisse Fälle erwiesene Notwendigkeit des Kaliums und Magnesiums tatsächlich allgemein giltig ist (p. 100) und läßt sie im Grunde genommen unentschieden, indem die Tatsache von der Unentbehrlichkeit des Kaliums<sup>1)</sup> ihm noch keineswegs eine unumstößliche ist (p. 112). Speziell die Besprechung der Magnesiumversuche wird folgendermaßen eingeleitet: „Vor einiger Zeit konnten Molisch und ich darthun, daß dem Magnesium im Ernährungsprozeß der Schimmelpilze eine wichtige Rolle zu vindizieren sei und daß es hier von anderen Elementen nicht vertreten werden kann. In der Erkenntnis aber, daß der aus unseren Experimenten gezogene Schluß auf die Unentbehrlichkeit dieser Elemente für das ganze Leben nur eine Abstraktion aus einer beschränkten Zahl von Erfahrungsthatfachen ist, in der Erkenntnis ferner, daß man sich unter der oft wiederkehrenden Be-

1) So beobachtete derselbe nach eigener Angabe vielfach Bakterienentwicklung in kaliumfreien Kulturen (p. 112, Fußnote).

hauptung, das Magnesium spiele eine Rolle bei der Eiweißsynthese, vorläufig nicht viel vorstellen kann, daß also weiteres experimentelles Material erwünscht sein dürfte, führte ich“ etc.

Das ist jedenfalls ein erfreulicher Fortschritt, denn sobald wir erst zu einer richtigen Beurteilung der Tragweite unserer Experimente einschließlich der landläufigen Hypothesen gelangt sind, kann auch eine weitere Klärung nicht ausbleiben; wo sich aber alle Dinge immer wieder und ohne wesentliche Erweiterung der Gesichtspunkte um denselben alten, oft wiederholten Punkt drehen, und die Ergebnisse einiger in dieser Absicht unternommene Versuche zu „Axiomen“ verarbeitet werden, ist Gewinnung einer besseren Einsicht natürlich ausgeschlossen. Hypothesen sind ja ganz nett, ein physiologischer Arbeiter aber, der nicht Skeptiker ist und alles skrupellos annimmt, verfällt gar leicht der Gefahr des Dilettantismus.

Wehmer (Hannover).

**Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien.** 186 p. m. 29 Abb. Jena (G. Fischer) 1897. Preis 4 M.

Nachdem fast 2 Jahrzehnte die Bakteriologie von den Botanikern recht wenig beobachtet worden war, beginnen erst in neuester Zeit wieder die Forschungen von botanischer Seite aus einzusetzen. Der Verf. des vorliegenden Buches hat sich durch seine Arbeiten über den Zellinhalt und die Geißeln der Bakterien einen guten Namen gemacht und bietet in Form von Vorlesungen eine gedrängte Uebersicht über die Leistungen und Ziele der heutigen Bakteriologie. Daß ein Bedürfnis für einen kurzen Leitfaden vorlag, der in knapper Form die gesicherten Resultate ohne allzuweites Eingehen auf die Litteraturquellen darbietet, wird niemand bestreiten, der sich ohne große einige Studien orientieren will. Zur Einführung empfiehlt sich das Buch hauptsächlich für die Studierenden der Botanik, der Landwirtschaft, der Gärungstechnik etc., während natürlich der Mediziner noch weitere Werke von mehr fachwissenschaftlichem Inhalte notwendig hat. Indessen auch für letzteren ist das Studium des Buches von Vorteil, weil ihm Gelegenheit geboten wird, die Morphologie und Physiologie der Bakterien von der rein botanischen Seite kennen zu lernen. Und dies dürfte, da die medizinische Bakteriologie immer mehr auf Abwege zu geraten scheint, zur Wiedereinführung strenger Wissenschaftlichkeit von Vorteil sein.

Als Botaniker hat Verf. natürlich in erster Linie diejenigen Disziplinen der Bakteriologie berücksichtigt, welche mit botanischer Methodik bearbeitet werden müssen, also die Morphologie, Systematik und Physiologie. Dagegen sind die vielen Fragen der medizinischen Bakteriologie, wie die Immunität, pathogene Wirkungen etc. entsprechend kürzer behandelt worden.

Jede der 17 Vorlesungen bringt ein abgerundetes Ganzes zur Darstellung. Der Verf. versteht es ausgezeichnet, durch seine gewandte Behandlung des Stoffes das Interesse wach zu erhalten. Nicht zum wenigsten dadurch, sondern auch durch die äußere Ausstattung wird es dem Buche bald gelingen, sich Freunde zu erwerben.

Lindau (Berlin).

**Grethe, G.**, Ueber die Keimung der Bakteriensporen. [Aus dem pathologischen Institut zu Halle a. S.] (Fortschritte der Medizinen. 1897. No. 2. p. 43. No. 3. p. 81. No. 4. p. 135.)

Das Studium der Morphologie der Bakterien hat in letzter Zeit hinter anderen wichtigeren und aussichtsvolleren Fragen etwas zurücktreten müssen, eine bedauerliche Thatsache, da gerade auch auf diesem Gebiete noch manches aufklärungswert ist. Die Arbeit Grethe's liefert einen interessanten Beitrag, indem er den Vorgang der Sporenkeimung genauer studiert. Es ist dieser Prozess zwar schon von anderen Autoren eingehend verfolgt worden, indes erschien es dem Verf. wünschenswert, gerade mit Hilfe der neuesten Technik noch einmal das Thema erneut in Bearbeitung zu nehmen. Es handelt sich dabei im wesentlichen um Anwendung der „Ernst'schen Reaktion und der Möller'schen Sporenfärbung. Die erste Methode beruht bekanntlich auf Färbung mit schwach erwärmtem Löffler'schen Methylenblau, mit nachfolgender Behandlung mit dünnem, wässrigem Bismarckbraun, wobei die Ernst'schen Prophagen oder sporogene Körner als charakteristische Farbenreaktion tiefschwarz werden. Die Möller'sche Färbung besteht darin, daß man nach Behandlung des Präparats mit Chloroform zur Entfernung des Fettes etc. die Sporen durch die Einwirkung einer 5-proz. Chromsäurelösung zur Aufnahme des Farbstoffes geeignet macht. Darauf läßt man eine Minute lang kochendes Karbolfuchsin einwirken, entfärbt mit 4-proz. Schwefelsäure und macht eine Gegenfärbung mit Methylenblau.

Nach diesen Methoden wurde die Auskeimung der Sporen studiert, ebenso wurde diese aber auch direkt im hängenden Tropfen beobachtet. Um im letzteren Oscillationsbewegungen u. a. Störungen nach Möglichkeit zu vermeiden, wurde dieselbe durch Nähragar fixiert.

Nach diesen Grundsätzen sind genauer studiert worden

- 1) Der *Bacillus mycoides* oder Wurzelbacillus;
- 2) der *Bacillus megaterium* (de Bary);
- 3) der *Heubacillus*;
- 4) der *Bacillus anthracis*.

Aus den Beobachtungen des Verf.'s erscheint das Folgende beachtenswert:

Die Frage, ob die Art des Ausschlüpfens des *Bacillus* aus der Spore ein Unterscheidungsmerkmal verschiedener Bakteriengruppen sei, glaubt Verf. meist schlechthin bejahen zu können, denn durch die *Heubacillen* verschiedenen Ursprungs konnten alle Uebergänge von der rein äquatorialen Keimung des Wurzelbacillus bis zu der rein polaren des Milzbrandes vermittelt werden. Die Verschiedenheit im Verhalten der Sporenmembran gegenüber dem wachsenden und andrängenden Keimling glaubt Verf. die verschiedenen Elektrizitätsverhältnisse dieser Membran zur Erklärung heranziehen zu sollen.

Der junge eben ausgeschlüpfte *Bacillus* unterscheidet sich um nichts von älteren Bakterienindividuen. Die Teilung derselben beginnt schon in überraschend kurzer Zeit nach dem Ausschlüpfen, dabei tritt die Sporenhaut häufig noch dem primären Keim als Kappe auf. Von der Hoffnung, mit Hilfe der Färbung Uebergangsstadien zwischen dem Verhalten der Spore und des ausgebildeten *Bacillus* zu finden, ist nicht viel geblieben. Bei der Berücksichtigung der

Resultate der Ernst'schen Färbung müßte man annehmen, daß die keimenden Sporen eine gewisse Entfärbbarkeit, wenn auch nur gegen ein so schwaches Mittel, wie dünne Bismarckbraunlösung etwas länger bewähren, wie die Widerstandsfähigkeit gegen die Aufnahme von Farbstoffen. Die bei der Ernst'schen Methode beobachtete Schwarzbraunfärbung der keimenden Sporen faßt Grethe nicht als Uebergang zwischen Sporensubstanz und Bakterienprotoplasma auf.

O. Voges (Berlin).

**Köster, A.,** Ueber einen Milchfehler, seine Ursache und seine Beseitigung. (Mitteil. des landwirtschaftl. Institutes der Universität Leipzig, hrsg. von W. Kirchner. 1897. p. 167—170.)

Verf. untersuchte den abnormalen, durch heftige Blähungserscheinungen charakterisierten Reifungsverlauf von Backsteinkäsen einer am Harze gelegenen Molkerei. Veranlassung zu dieser Störung gab die Verwendung einer von einem bestimmten Rittergute herstammenden Milch, welche den Blähungserreger somit enthalten mußte.

Durch an Ort und Stelle durchgeführte Untersuchung von Luft, Wasser, sowie der Milch der einzelnen Kühe des Rittergutes stellte es sich heraus, daß der ursprüngliche Sitz des Schädling nur in dem vom Stallpersonal verwendeten Wasser gesucht werden konnte. In der That zeigte sterilisierte Milch durch Zusatz von kleinen Mengen des dort verwendeten Wassers die charakteristischen Gärungserscheinungen und den fruchtätherartigen Geruch. Aus solcher in der eben besprochenen Weise in Gärung versetzten Milch wurde mittels Bierwürzelatine ein „kokkenähnlicher Bacillus“ isoliert, der nun auch für sich allein in sterilisierter Milch die bekannte Gärung hervorrief, der somit den gesuchten Erreger jener obengenannten Käseblähung vorstellte.

Die nähere Beschreibung dieses Schädling und der von ihm ausgelösten chemischen Umsetzungen verspricht Verf., in einem späteren Berichte nachzutragen, da er in seinen Arbeiten durch die baulichen Veränderungen am Leipziger landwirtschaftlichen Universitätsinstitute gestört wurde.

Wenn Verf. auf p. 170 der Mitteilungen die Vermutung ausspricht, daß der von ihm gefundene Spaltpilz Aehnlichkeit mit dem von Klecki beschriebenen *Bac. saccharobutyricus* besitze, so beruht dies auf einem Irrtum, denn *Bac. saccharobutyricus* ist ein typisches Anaërobium, welches z. B. nie — wie dies der Köster'sche Spaltpilz gethan — bei der Kultur in Erlenmeyerschen Kölbchen in der verwendeten Milch gediehen wäre und eine Gärung ausgelöst hätte. Er gehört zu den in der Natur weit verbreiteten, mit Gärungsvermögen ausgestatteten und bei Luftzutritt wachsenden Wasserbakterien, deren Ref. mehrere bereits antraf. Der heftigste Gärungserreger dieser Gruppe, den Ref. bisher unter den Händen hatte, wurde z. B. im vergangenen Winter im Brunnenwasser der Molkerei zu W. Dr. vom Genannten gefunden, wo derselbe — und das ist höchst merkwürdig — nahezu in Reinkultur vorhanden war. Ueber diesen Nährgelatine nicht verflüssigenden und in Milch wohl Gerinnung hervorrufenden, aber keine flüchtigen Säuren produzierenden Spaltpilz wird später hier noch eingehender berichtet werden.

L. Adametz (Krakau).



**Busse, Walter**, Bakteriologische Studien über die „Gummosis“ der Zuckerrüben. (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. Bd. VII. 1897. p. 65 und 149.)

**Kramer** und **Sorauer** haben seiner Zeit fast gleichzeitig eine Rübenkrankheit beschrieben, welche von dem Ersten „Bacteriosis“, von dem Zweiten „bacteriose Gummosis“ der Runkelrüben benannt wurde, und welche sich dadurch charakterisierte, daß die frischen Schnittflächen der erkrankten Rüben sich, der Luft ausgesetzt, schnell schwarz oder schwarzblau, namentlich am Schwanzende, färbten; das Fleisch zeigte bei fortschreitender Erkrankung nach einigen Wochen eine speckige Beschaffenheit, die Rüben waren zähe und ließen sich kaum brechen. Durchschnitt man frische Exemplare, so sah man nicht selten an einzelnen Punkten des gebräunten Gefäßbündelkörpers binnen wenigen Minuten oder auch erst nach längerer Zeit Tröpfchen einer gummiartigen Flüssigkeit hervortreten, die sich schnell schwärzten. Je nach dem Grade der Erkrankung pflanzt sich die Schwarzfärbung der Gefäßbündel auch auf das angrenzende Parenchym fort; **Sorauer** und **Kramer** konnten sowohl in den Zellen des in Zersetzung begriffenen Parenchyms, wie auch in der gummiösen Flüssigkeit zahlreiche Bakterien nachweisen. Die beim Zerschneiden der heftig erkrankten Rüben austretende Flüssigkeit zeigte stark reduzierende Eigenschaften gegen Fehling'sche Lösung und lieferte verschiedene Reaktionen, welche auf einen hohen Gehalt an Traubenzucker zu schließen gestatteten. **Stift** hat später ähnliche Krankheitserscheinungen an Zuckerrüben beobachtet und die Ansicht ausgesprochen, daß dieselben mit der von **Sorauer** und von **Kramer** kurz zuvor beschriebenen Krankheit der Runkelrüben in Zusammenhang zu bringen wären. Die späteren Mitteilungen **Sorauer's** haben die Richtigkeit dieser Ansicht erwiesen. Bei den kranken Zuckerrüben stimmen die Merkmale im allgemeinen mit denen der Runkelrüben überein, nur daß die „Gummiherde“ als nebensächliche Begleiterscheinung aufzufassen sind, nachdem die wichtigste, verhängnisvolle Krankheitserscheinung in der Inversion des Rohrzuckers liegt. **Arthur** und **Golden** haben über eine mit Rohrzuckerverlust verbundene Bacteriosis auf amerikanischen Rüben berichtet, und in allen Teilen der Pflanze Bakterien nachgewiesen. Um die Frage zu entscheiden, ob die „Gummosis“ der Zuckerrüben als eine echte Bakterienkrankheit anzusehen ist, galt es erstens, festzustellen, ob sich in den erkrankten Rüben regelmäßig Bakterien der gleichen Art nachweisen lassen, denen die Fähigkeit, Rohrzucker zu invertieren, eigen ist, und zweitens zu untersuchen, ob sich an gesunden Rüben durch Uebertragung von Reinkulturen dieser Bakterien die charakteristischen Krankheitserscheinungen hervorrufen lassen. Verf. hat nun aus einer kranken Rübe Schnittflächen hergestellt und von jeder einen dünnen saftigen Brei abgeschabt, welcher auf die Oberfläche sterilisierter Scheiben gesunder Zuckerrüben ausgestrichen wurde. Diese Scheiben waren  $1\frac{1}{2}$  cm dick und befanden sich in gläsernen Doppelschalen. Drei Tage nach der Impfung hatten sich auf fast sämtlichen Rübenscheiben vereinzelte Kolonien entwickelt und konnte man nach weiteren zwei Tagen in der Mehrzahl der 3—5 mm breiten Kolonien eine starke Gasentwicklung beobachten, wobei ein Teil der Kolonien eine

gelbliche Färbung angenommen hatte. Die Bakterien wurden auf 10 proz. Rohrzuckerpeptonagar rein gezüchtet, und entwickelten sich 3 Arten von Kolonien: 1) gelbe, 2) rötliche, 3) farblose bzw. schwach gelblich gefärbte, von denen die letzteren sich dadurch auszeichneten, daß in ihrer unmittelbaren Umgebung zahlreiche Gasbläschen auftraten. Von den 3 isolierten Bakterienarten wurden nun Stichkulturen in 10 proz. Rohrzuckerpeptonagar hergestellt, in denen namentlich No. 3 unter heftiger Gasentwicklung vorzüglich gedieh, während No. 1 und 2 sich im Inneren des Stiches fast gar nicht entwickelten und auch keine Gärungserscheinungen auftraten. Die Arten 1 und 2 wurden nur auf Agar weiter gezüchtet und beiseite gestellt, während die dritte Art näher studiert wurde. Diese Art, welche Verf. *Bacillus*  $\alpha$  nennt, ist wie folgt charakterisiert: Kurzstäbchen 1,72—2  $\mu$  lang und 0,8—0,9  $\mu$  breit, mit abgerundeten Enden; bisweilen fast eiförmige Diplobakterien häufig, stark beweglich, mit den gewöhnlichen Anilinfarben leicht färbbar. Bildet in Plattenkulturen auf gewöhnlicher Gelatine rundliche (bei Zimmertemperatur) 3 mm Durchmesser erreichende, nicht verflüssigende, erhabene, farblose bis schwach gelbliche, bei durchfallendem Lichte bläulich schimmernde, schleimig aussehende Oberflächenkolonien. Die Tiefenkolonien erscheinen als runde, gelbliche, etwa 5 mm im Durchmesser haltende Pünktchen, welche, bei schwacher Vergrößerung betrachtet, scharf-berandet und fein granuliert aussehen, besondere Merkmale aber nicht aufweisen. Auf Rohrzuckerpeptonagar wächst der *Bacillus* schneller als auf Gelatine, und entwickelt sich üppig im Stich. Die Entwicklung ist in 2-proz. Peptonwasser schwach, in 2-proz. Peptonwasser mit 5-proz. Traubenzucker schnell und üppig. Da die Reinkulturen in Traubenzuckerpepton-Lösung infolge Unterbrechung des Studiums einzogen, so wurden die Versuche mit anderen kranken Rüben durchgeführt, und bei der Reinkultur in Rohrzuckerpepton-Lösung ein Gärungsreger isoliert, den Verf. vorläufig als „*Bacillus*  $\beta$ “ bezeichnet. Derselbe erscheint wie folgt charakterisiert: Kurzstäbchen, auf Gelatine länglich-eiförmig, in Pepton-Saccharose-Lösung schlanker, doch ebenfalls mit abgerundeten Enden; Länge: 1,5—1,75  $\mu$ , Breite: 0,7—0,8  $\mu$ . Diplobakterien häufig, in älteren Agarkulturen Fadenbewegung, lebhaft beweglich, mit Anilinfarben gut färbbar, Sporenbildung nicht beobachtet. Die Tiefenkolonien gleichen denen des *Bacillus*  $\alpha$ . Auf 10-proz. gewöhnlicher Gelatine entwickeln sich nicht schleimige Auflagerungen, ältere Kolonien erscheinen wachsartig. Die Gelatine wird nicht verflüssigt, Strichkultur auf Peptonagar: Schnelles und üppiges Wachstum, desgleichen auf Peptonagar mit 8 Proz. Rohrzucker, 2-proz. Peptonwasser mit 5 Proz. Glukose, 2-proz. Peptonwasser mit 8 Proz. Rohrzucker; auf 2-proz. Peptonwasser mäßige Entwicklung. Bei Stichkultur in Gelatine mit 8 Proz. Rohrzucker, Entwicklung im Stich mäßig. Nach einigen Tagen treten Gasblasen auf und darauf erfolgt Zerklüftung der Gelatine nach allen Richtungen. Kultur auf sterilisierte Zuckerrübenscheiben: weißliche, schleimige, fadenziehende Kolonien, die Rübenmassen und der sie umgebende Saft von schleimiger, fadenziehender Konsistenz, die Kulturen erhalten einen schwach säuerlichen Geruch. Bei höheren Temperaturen zeigt der *Bacillus* eine langsame und beschränkte Ent-

wicklung, während bei 12—14° das Wachstum ein schnelles ist; bei fortgesetzter Züchtung findet natürlich eine Gewöhnung an höhere Temperaturen (22°) statt. Wie zu erwarten war, wächst der *Bacillus* auch anaerob. Bei intraperitonealer und subkutaner Applizierung erwies sich der *Bacillus* bei Meerschweinchen als nicht pathogen. Ob beide Bakterien identisch sind, läßt sich nicht sicher beantworten, doch steht aber fest, daß sie sehr nahe verwandt sind, und möchte sie Verf. vorläufig als Formen ein und derselben Art ansehen.

Weiter wurde nun die Frage zu entscheiden gesucht, ob diese Bakterien als Urheber der bekannten Krankheitserscheinung anzusehen sind. Gesunden Rüben wurde eine Reinkultur des *Bacillus*  $\beta$  eingespritzt und dieselben weiter wachsen gelassen. Nach der Ernte wiesen sämtliche geimpften Rüben nach dem Durchschneiden die Kennzeichen der „Gummosis“ in mehr oder minder hohem Grade auf und wurde auch Invertzucker mikrochemisch nachgewiesen. Außerdem wurde auch nachgewiesen, daß sich das eingeführte Bakterium im Rübenkörper am Leben erhalten und verbreitet hatte. Es ist also die „Gummosis“ als eine echte Bakterienkrankheit anzusehen.

Verf. konnte ferner aus zwei gummosiskranken Rüben der 1895er Ernte einen weiteren *Bacillus* ( $\gamma$ ) isolieren, dessen morphologische Eigenschaften und Wachstumserscheinungen auf den gebräuchlichen Nährmedien mit denen des *Bacillus*  $\alpha$  übereinstimmten und denen des *Bacillus*  $\beta$  sehr ähnlich waren. Verf. will vorläufig den für seine Infektionsversuche verwendeten Spaltpilz als Varietät  $\beta$  der neuen Art „*Bacillus betae*“ (= *Bacillus* „ $\alpha$ “ und „ $\gamma$ “) bezeichnen. Jedenfalls liegt also der „Gummosis“ der Zuckerrüben ein spezifischer Erreger, „*Bacillus betae*“, einschließlich dessen Var.  $\beta$  zu Grunde.

Zu ermitteln wäre nun, ob die von Arthur und Golden beschriebene Krankheit der Zuckerrüben mit der „Gummosis“ Sorauer's zu identifizieren und ob der von denselben isolierte Spaltpilz mit Recht als Krankheitserreger angesehen werden darf. Sollte beides zutreffen, so wäre damit der Beweis erbracht, daß nicht nur eine einzige Bakterienart die hier in Frage kommenden pathologischen Erscheinungen hervorzurufen vermag, sondern eine Gruppe von Spaltpilzen, denen die Fähigkeit, Rohrzucker zu invertieren, gemeinsam ist, nachdem das Rübenbakterium von Arthur und Golden die Gelatine verflüssigt, *Bacillus betae* aber nicht. Am schwierigsten wird aber die Frage, auf welchem Wege die Mikroorganismen in den Rübenkörper eintreten, zu lösen sein. Bei der Gummosis der Zuckerrüben stellt offenbar die Infektion des Rohrzuckers das Anfangsstadium des Krankheitsverlaufes dar und ist hier einem Saprophyten durch Anhäufung des ihm zusagenden Kohlenhydrates günstige Gelegenheit für ein vorübergehend parasitäres Dasein geboten.

Stift (Wien).

Fischer, Ed., Beiträge zur Kenntnis der schweizerischen Rostpilze. (Extrait du Bulletin de l'Herbier Boissier. T. V. 1897. No. 5.

Es werden einige neue Rostpilze beschrieben. *Uromyces Dietelianus* n. sp. ist einer der wenigen *Uromyces*, die auf *Carex*-arten vorkommen. Verf. fand die beschriebene Form auf *Carex*

*sempervirens* in der Nähe von Adalboden (Berner Oberland). Es dürfte eine heteröcische Art vorliegen, doch schlugen die Versuche des Verf.'s zur Lösung dieser Frage fehl. — Auf *Epilobium Fleischeri* findet sich eine *Puccinia*, die in den Pilzfloren gewöhnlich zu *P. Epilobii-tetragoni* gerechnet wird. Verf. fand auf genannter Pflanze eine *P.*, bei der die Uredolager fehlten, woraus er den Schluß zieht, daß die Aecidien direkt Teleutosporen erzeugten. Endweder handelt es sich um einen von *P. epilobii tetragoni* verschiedenen Pilz (eine *Pucciniopsis*), oder das Fehlen der Uredosporen ist eine Verkürzung der Pilzentwicklung, hervorgerufen durch den hohen Standort (1800 m üh. M. u. darüber). Verf. entscheidet sich für die erstere Annahme; die Form unterscheidet sich auch sonst von der gen. *Puccinia*, und der Verf. benennt sie *P. Epilobii-Fleischeri* n. sp. — Schon früher leistete Verf. den Nachweis, daß Aecidien, welche im Oberengadin auf *Cirsium heterophyllum* und *C. spinosissimum* beobachtet wurden, zu einer auf *Carex frigida* lebenden *Puccinia* gehören. Es folgt die Beschreibung der neuen Species: *Puccinia frigidae* n. sp. Ueber die Unterschiede dieser Art von *P. dioicae* Magn., sowie die Speciesbeschreibungen muß auf das Original verwiesen werden.

A. Maurizio (Zürich).

**Lindner, Franz**, Die Flachsfransenfliege, *Thrips linaria* Uzel. (Oesterr. landw. Wochenblatt. 1897. p. 234.)

Dieser Schädling, auch Flachsfliege genannt, gehört in die Ordnung der Blasenfüßler (*Physopoda*) oder Fransenflügler (*Physanoptera*) und wird von einigen auch zu den Orthopteren, mit denen er die unvollkommene Verwandlung gemein hat, gezählt. Das Tier ist wahrscheinlich identisch mit dem von Ladureau beschriebenen *Thrips lini* Ladureau, dessen Auftreten im nördlichen Frankreich den Flachssaaten schon großen Schaden verursacht haben soll. Dieser Schädling kann so zahlreich auftreten, daß er ganze Felder befällt und Veranlassung zu der Bezeichnung „vergifteter Flachs“, in Frankreich „Brûlure du lin“, gegeben hat. Die Erscheinung zeigt sich bereits im Mai und Juni, indem die Pflanzen bleich und gelb werden, die Spitzen nach abwärts neigen und gewissermaßen alle Merkmale des Welkwerdens erkennen lassen. Bei genauer Untersuchung der obersten Blätter, bezw. der Terminulknospen, kann man eine Anzahl schwarzer Strichelchen finden, welche das ca. 2 mm lange Insekt darstellen, welches durch den langgestreckten Leib und die mit langen Fransen versehenen Flügel charakterisiert ist. Es scheinen mehrere Generationen in einem Jahre aufzutreten, denn schon anfangs Juli findet man in den Fruchtknoten die citronengelben Larven in völlig ausgewachsenem Zustande. Obwohl das Längenwachstum des Leines durch diesen Schädling nicht wesentlich behindert zu sein scheint, wird doch die Samenbildung geradezu unterdrückt. Ob und inwieweit die Güte der Faser, sowie die sonstige Beschaffenheit der Flachspflanze durch das Thier beeinträchtigt wird, ist noch unbekannt. Die Gefahr für den Flachsbau ist eine ernstliche, nachdem eine erfolgreiche Bekämpfung bei der mikroskopischen Kleinheit des Schädlings sehr schwierig erscheint.

Stift (Wien).

**Rörig, Die Weidenblattkäfer.** (Illustrierte landwirtschaftliche Zeitung. 1897. p. 636.)

Verf. hat in verschiedenen Weidenkulturen im Jahre 1896 die folgenden Schädlinge vorzugsweise beobachtet: 1) Den Weidenblattkäfer (*Chrysomela vulgatissima* L., *Phyllodecta*, *Phratora vitellinae* Gyll., *coerulescens* Küst.), 2) Sahlweidenblattkäfer (*Galeruca capriae*).

1) Der Weidenblattkäfer gehört zu der Familie Chrysomeliden, ist etwa 2—2,4 mm breit, bei doppelter Länge und unterscheidet sich von seinem Verwandten dadurch, daß seine Beine stets dunkler gefärbt sind, während dieselben bei jenem zum Teil gelbe oder rote Farbe tragen. Auch seine Larven sind durch die einfarbigen Unterteile nicht mit denjenigen seiner Verwandten zu verwechseln. Im Kreislauf eines Jahres dürften nur 2 Generationen aufeinander folgen. Als Winterquartiere der Käfer dienen rissige Rinden alter Stämme, trockene Schilfüberreste, von der Flut zusammengetragene Strohhaufen, namentlich aber Strohdächer der in der Nähe der Weidenanpflanzungen stehenden Häuser. Die Käfer scheinen an warmen, sonnigen Tagen um die Mittagszeit am lebhaftesten zu sein und fliegen dann gewandt dicht über den obersten Spitzen der Weidenruten umher; bei Regenwetter sitzen die Käfer auch zur Mittagszeit ruhig an geschützten Stellen, und zwar häufig an der Blattunterseite. Die Larven verzehren ausschließlich oder fast ausschließlich das Blattfleisch der Unterseite, während die Käfer die Oberseite bevorzugen, im übrigen aber ebenso sorgfältig auch die kleinsten Rippen verzehren, wie die Larven. Von den verschiedenen Weidenarten wurden mit Vorliebe *Salix viminalis* heimgesucht. *S. amygdalina* dagegen wenig oder gar nicht angegriffen. Uebrigens hat auch Altum schon vor Jahren die Beobachtung gemacht, daß die verschiedenen Weidenblattkäfer eine ganz bestimmte Geschmacksrichtung zeigten.

2) Der Sahlweidenblattkäfer ist etwa 6 mm lang und besitzt eine lederbraune Farbe, die nur an den Spitzen der Fühlerglieder der Stirne, einem Flecken an dem Halsschild, den Schulteradern, dem Schildchen und der Bauchseite mit Ausnahme der letzten zwei Segmente einen schwärzlichen Grundton zeigt. Seine Lebensweise ist gleich der des *Chrys. vulg.*, doch geben aber die Käfer im Gegensatz zu diesen der Mandelweide den Vorzug vor der Hanfweide, finden sich aber sowohl auf dieser, wie auch auf der Sahlweide.

Die Bekämpfung der beiden Weidenblattkäfer, wie auch der übrigen nahen Verwandten kann lediglich nur durch Massenvertilgung erfolgen, die aber nur dann Aussicht auf Erfolg haben kann, wenn durch behördliche Vorschriften sämtliche Weiden bauenden Landwirte einer Gegend dazu angehalten werden, zu gleicher Zeit und mit gleichen Mitteln die als zweckmäßig erkannten und zur Durchführung empfohlenen Schritte zur Verminderung der Plage zu thun; durch Bildung von Weidenbau-Genossenschaften und Kontrollkommissionen dürfte eine einheitliche Regelung der Angelegenheit herbeizuführen sein.

Zum Einfangen der Käfer empfiehlt sich ein Apparat, welcher durch die Weidenruten geschoben wird, und bei welchem durch Arme die Käfer von den Ruten abgestreift und in mit Wasser

gefüllte Kasten fallen. Diese Vorrichtung läßt sich aber nur bei einjährigen Anlagen und auch nur dann anwenden, wenn die Ruten noch nicht zu hoch sind; in diesem Falle muß das Abstreifen der Ruten durch Arbeiter geschehen. Ein weiteres, höchst wichtiges Bekämpfungsmittel liegt in der Befestigung von Strohwischen an Stöcken, die in den Weidenanlagen angebracht werden; weitere, sehr beliebte Verstecke sind mit Löchern versehene Pfähle, die zum Ueberfluß noch mit Borke versehen sind, auch werden bisweilen Haufen von Schilf, Binsen oder Rohr, in gewissen Abständen von einander verteilt, gute Dienste thun. Alle diese Schlupfwinkel sind zu Beginn der rauhen Jahreszeit, etwa im Oktober, zu untersuchen und dann zu verbrennen; die noch nicht stark besetzten bleiben stehen und werden im Frühjahr, wenn nach wärmeren Tagen noch eine kurze Kälte eintritt, noch einmal revidiert. Stift (Wien).

## Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

**Guozdenovic, Fr.,** Ueber die Bekämpfung des Heuwurmes. (Die Weinlaube. 1897. Nr. 20. S. 229 ff.)

Verf. hat über die im Vorjahre von der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Spalato in der oben bezeichneten Richtung gesammelten Erfahrungen einen Bericht an das Ackerbauministerium erstattet. Schon 1895 und 1896 waren mit der sogenannten Dufour'schen Flüssigkeit (3 kg Kaliseife in 10 Liter warmen Wassers gelöst, 1—1½ kg Chrysanthemumpulver darin eingeführt und das Ganze auf 1 hl durch Zusatz von kaltem Wasser verdünnt) gute Erfolge erzielt worden. Die besten Resultate erzielte man jedoch erst, als die sogenannte „Cannulla sibella“ zur Anwendung kam. Dieselbe stellt eine Lanze dar, welche an die Stelle des gewöhnlichen Bestäubers an der Peronosporaspritze angebracht wird. Durch intermittierendes Drücken des Stiftes ist es möglich, kleine Mengen Flüssigkeit in jedes Gespinst unter Druck einzuspritzen, wodurch die Behandlung nicht nur rascher und bequemer, sondern auch bedeutend billiger wird.

Dieses Verfahren findet in Dalmatien, besonders auf den Inseln Lissa, Lesina und Curzola eine verbreitete Anwendung.

Moritz (Berlin).

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

**Gerlach, V.,** Ueber Fortschritte auf dem Gebiete der Bakteriologie. (Chemiker-Ztg. 1897. No. 78. p. 727—730.)

## Untersuchungsmethoden, Instrumente u. a. w.

**Johns, Das Kohlensäure-Gefrier-Mikrotom.** (Ztschr. f. Tiermed. Bd. I. 1897. Heft 5. p. 366—373.)

## Systematik, Morphologie und Biologie.

**Binaghi, E.,** Ueber einen Streptococcus capsulatus. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 10/11. p. 273—279.)

**Claassen, E.,** Second list of Erysipheae Lev. (White mildews) of Cuyahoga and other counties of Northern Ohio, together with the names of their host-plants. (Annual rep. of the Ohio State acad. of scienc. 1897. p. 67.)

—, List of the uredineae of Cuyahoga and other counties of Northern Ohio, together with the names of their host-plants. (Annual rep. of the Ohio State acad. of scienc. 1897. p. 68.)

**Delacroix, G.,** Espèces parasites nouvelles. (Bullet. de la soc. mycol. de France. T. XIII. 1897. Fasc. 2. p. 103—112.)

—, Sur le Coniothyrium melasporum (Berk.) Sacc. (Bullet. de la soc. mycol. de France. T. XIII. 1897. Fasc. 2. p. 112—113.)

—, Quelques espèces nouvelles. (Bullet. de la soc. mycol. de France. T. XIII. 1897. Fasc. 2. p. 114—127.)

**Effront, J.,** Sur une nouvelle enzyme hydrolytique „la caroubinase“. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 2. p. 116—118.)

**Emmerling, O.,** Die Zersetzung von Fibrin durch Streptokokken. (Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. 1897. No. 14. p. 1863—1868.)

—, Chemische und bakteriologische Untersuchung über die Gärung des frischen Grasses. (Ber. d. dtsh. chem. Gesellsch. 1897. No. 14. p. 1869—1870.)

**Ewart, A. J.,** On the evolution of oxygen from coloured bacteria. (Journ. of the Linnean soc. Botan. 1897. No. 228. p. 123—155.)

**Fischer, E.,** Neuere Untersuchungen über die Rostpilze. (Mitteil. d. naturforsch. Gesellsch. in Bern aus dem Jahre 1895. Bern 1896. p. IX.)

**Klöcker, A. et Schönning, H.,** Que savons nous de l'origine des saccharomyces? (Annal. de microgr. 1897. No. 6, 7/8. p. 233—250, 281—301.)

**Lindau, G.,** Ueber Insekten-bewohnende Pilze. (Naturwissensch. Wehschr. 1897. No. 26. p. 304—307.)

**Mertens, G.,** Quelques mots sur la fermentation. (Bullet. de l'assoc. d. anciens élèves de l'école de brasserie de Louvain. 1897. No. 4.)

**Pound, E. and Clements, F. C.,** A re-arrangement of the North American hyphomycetes. (Minnesota bot. studies. Bullet. No. 9. 1897. p. 726—738.)

**Boze, E.,** Les espèces du genre Amylotrogus, parasites de la fécule. (Bullet. de la soc. mycol. de France. T. XIII. 1897. Fasc. 2. p. 76—89.)

—, Le Vilmorinella, un nouveau genre de myxomycètes. (Bullet. de la soc. mycol. de France. T. XIII. 1897. Fasc. 2. p. 89—96.)

**Vuillemin, P.,** Sur les anachronismes parasitaires. (Bullet. de la soc. botan. de France. 1897. No. 9. p. 694—697.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

## Luft und Wasser.

**Bolley, H. L.,** An apparatus for the bacteriological sampling of well waters. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 10/11. p. 288—290.)

## Boden.

**Pfuhl, E.,** Ueber die Verschleppung von Bakterien durch das Grundwasser. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXV. 1897. Heft 3. p. 549—554.)

**Stutzer, A. u. Jensen, H.,** Die Zerstörung des Salpeters durch Bakterien. (Dtische landwirtschaftl. Presse. 1897. No. 73. p. 665—666.)

**Weissenberg, H.,** Studien über Denitrifikation. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXX. 1897. Heft 3. p. 274—290.)

## Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

## Fleisch.

**Kühnau, Fleischvergiftungen und Fleischschau.** (Central-Ztg. f. Veterinär-, Viehmarkt- u. Schlachthof-Angeleg. 1897. No. 36. p. 295—298.)

**[Milch, Molkerei.**

- Bendixen, N.**, Mikroorganismerna (mögelsvamp-jästsuvampar-bakterier) och mjölk-hushållningen. Öfvers. af N. Lundblad. 12°. 48 p. Stockholm (Bonnier) 1897. 60 Öre.
- Keith, S. C.**, A flavour-producing micrococcus of butter. (Chemic. News. 1897. No. 1974. p. 151—152.)
- Kühnau**, Genossenschaftsmeiereien und Tuberkulose. (Milch-Ztg. 1897. No. 33. p. 521—522.)
- Roth, O.**, Ueber die mikroskopische Untersuchung der Butter auf Bakterien, insbesondere auf Tuberkelbacillen. (Krrspdzbl. f. Schweiz. Aerzte. 1897. No. 18. p. 545—548.)
- Sonnenberger**, Ueber Intoxikationen durch Milch. (Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturforscher u. Aerzte. 68. Versamml. 1897. Teil II. 2. Hälfte. p. 246—247.)
- Vieth, P.**, Versuche mit Bakterienkulturen für die Rahmsäuerung. (Milch-Ztg. 1897. No. 33. p. 519—521.) — Desgl. v. **Lorentz, L.** (Ebd. 1897. No. 35. p. 556—557.) — **Hansen, S.** (Ebd. 1897. No. 36. p. 590—591.) — Erwiderung von **Vieth**. (Ebd. p. 591.)

**Bier, Brauerei.**

- Kuhn, W.**, La pasteurisation des bières. (Gaz. du brasseur. 1897. No. 498.)

**Wein, Weinbereitung.**

- Lagatu, H.**, La casse des vins. (Moniteur vinicole. 1897. No. 50. p. 198.)
- Lagatu, H. et Boos, L.**, Recherches sur la casse des vins. (Vigne franç. 1897. No. 13. p. 204—205.)
- Boos, L. et Chabert, F.**, Contribution à l'étude des fermentations viniques. (Rev. de viticult. 1897. No. 186—189. p. 33—37, 69—74, 89—94, 122—125.)
- Wortmann, J.**, Ueber künstlich hervorgerufene Nachgärungen von Weinen in der Flasche und im Fasse. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1897. Heft 2/3. p. 473—496.)

**Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.****Harmlose Bakterien und Parasiten.**

- Zinsser, O.**, Ueber das Verhalten von Bakterien, insbesondere von Knöllchenbakterien in lebenden pflanzlichen Geweben. (Jahrb. f. wissensch. Botan. Bd. XXX. 1897. Heft 4. p. 423—452.)

**Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.**

- Arthold, M.**, Zur Peronosporabekämpfung. (Allg. Wein-Ztg. 1897. No. 28. p. 283—284.)
- Beach, S. A.**, Treatment of leaf spot in plum and cherry orchards in 1896. (New York agricult. exper. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 118. p. 133—141.)
- Beckwith, W. H.**, Blight affecting the body of pear and apple trees. (U. S. Departm. of agricult. Exper. stat. record. Vol. VIII. No. 6. Washington 1897.)
- Briani, G.**, Rassegna generale delle ricerche fatte nel 1896 dalla Regia stazione di botanica crittogamica in Pavia. (Bollett. di notizie agrar. 1897. No. 15. p. 497—499.)
- Caseneuve, P.**, Sur la défense des vignes contra la cochylis. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 2. p. 132—134.)
- Chester, F. D.**, A leaf blight of the tomato. (Delaware stat. rep. 1895. (1897.) p. 123.)
- Chevallier, A.**, Traitement du black rot. Cépages résistants. (Rev. de viticult. 1897. No. 189. p. 134—135.)
- Crouzel, E.**, Les parasites du saule. Moyens pratiques de défense. 16°. Paris (Soc. d'édit. scientif.) 1897. 1 fr.
- Dieulafoy, L.**, Les maladies de la vigne et le lysol. (Vigne franç. 1897. No. 13. p. 200—201.)
- Dollen, Streifzug im Gebiete von Feinden unserer schädlichen Waldinsekten.** (Forstl.-naturwissensch. Ztschr. 1897. Heft 7. p. 257—270.)
- Duffoure-Bazin, E.**, Invasion des raisins par le black rot dans l'Armagnac landais. (Rev. de viticult. 1897. No. 188. p. 99—100.)
- Ellis, W. G. P.**, On a trichoderma parasitic on Pellia epiphylla. (Journ. of the Linnean soc. Bot. 1897. No. 228. p. 102—117.)



- Frank**, Ergebnisse der im Jahre 1896 angestellten Feldversuche gegen die Herz- und Trockenfäule der Zuckerrüben. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1897. No. 13. p. 193 — 201.)
- Gaillet, L.**, Considérations sur l'emploi des composés arsénicaux pour la destruction du sylphe de la betterave et des autres insectes phytophages. (Agricult. rationnelle. 1897. No. 10.)
- Guiraud, D.**, Traitement des maladies cryptogamiques. (Moniteur vinicole. 1897. No. 53. p. 210.)
- Hall, F. H.**, Spraying for plum and cherry leaf spot: how often? When? (New York agricult. exper. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 117.) 8°. 4 p. Geneva, N. Y. 1897.
- , The downy mildew of the cucumber and its treatment. (New York agricult. exper. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 119.) 8°. 6 p. Geneva, N. Y. 1897.
- , Onion cutworms; their ravages and treatment. (New York agricult. exper. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 120.) 8°. 5 p. Geneva, N. Y. 1897.
- , Spraying mixtures and their applications. (New York agricult. experim. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 121.) 8°. 6 p. Geneva, N. Y. 1897.
- , A peculiar insect enemy of the apple. (New York agricult. experim. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 122.) 8°. 5 p. Geneva, N. Y. 1897.
- , Does it pay to spray potatoes? (New York agricult. experim. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 123.) 8°. 6 p. Geneva, N. Y. 1897.
- , Preventive treatment of raspberry anthracnose. (New York agricult. experim. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 124.) 8°. 5 p. Geneva, N. Y. 1897.

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.

- Babcock, S. M. and Russell, H. L.**, Un-organized Ferments of Milk: a new Factor in the Ripening of Cheese. (Orig.), p. 615.
- Becker, H.**, Die Reinhefe in der Weinbereitung. (Orig.), p. 667.
- , Erwiderung. (Orig.), p. 674.
- Behrens, J.**, Untersuchungen über den Wurzelschimmel der Reben. (Orig.) [Forts.], p. 639.
- , Die Reinhefe in der Weinbereitung. (Orig.), p. 671.
- Burri, E.**, Aromabildende Bakterien im Emmenthaler Käse. (Orig.), p. 609.
- Casagrandi, O.**, Ueber die Morphologie der Blastomyceten. (Orig.) [Forts.], p. 634.
- Hartleb, E. u. Stutzer, A.**, Bemerkungen zu der Mitteilung von Dr. W. Rullmann: „Ueber ein Nitrosobacterium mit neuen Wuchsformen“. (Orig.), p. 621.
- Jensen, Hjalmar**, Das Verhältnis der denitrifizierenden Bakterien zu einigen Kohlenstoffverbindungen. (Orig.), p. 622.
- Jørgensen, Alfred**, Ein historisches Supplement zu Dr. J. Behrens' Abhandlung: „Die Reinhefe in der Weinbereitung“. (Orig.), p. 662.
- Peglion, Vittorio**, Il Mal dello Sclerozio della Barbabietola. (Orig.), p. 659.
- Sewerin, S. A.**, Die im Mist vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben. III. (Orig.), p. 628.

**Wehmer, C.**, Untersuchungen über Kartoffelkrankheiten. (Orig.), p. 646.

### Referate.

- Benecke, W.**, Die Bedeutung des Kaliums und des Magnesiums für Entwicklung und Wachstum des Aspergillus niger v. Th. sowie einiger anderer Pilzformen, p. 675.
- Busse, Walter**, Bakteriologische Studien über die „Gummosis“ der Zuckerrüben, p. 680.
- Fischer, A.**, Vorlesungen über Bakterien, p. 677.
- Fischer, Ed.**, Beiträge zur Kenntnis der schweizerischen Bostpilze, p. 682.
- Grethe, G.**, Ueber die Keimung der Bakteriensporen, p. 678.
- Köster, A.**, Ueber einen Milchfehler, seine Ursache und seine Beseitigung, p. 679.
- Lindner, Franz**, Die Flachsfransenfliege (Thrips linaria Uzel), p. 683.
- Rörig, Die Weidenblattkäfer**, p. 684.
- Schröter, C.**, Die Schwebeflora unserer Seen (das Phytoplankton), p. 675.

### Entwicklungshemmung u. Vernichtung der Bakterien etc.

**Gnosdenovic, Fr.**, Ueber die Bekämpfung des Heuwurmes, p. 685.

**Neue Litteratur**, p. 685.

# CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.**

**Zweite Abteilung:**

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische  
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,  
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,  
Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil  
Chr. Hansen in Kopenhagen, Privatdozent Dr. Lindau in Berlin, Dr. Lindner  
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in  
Washington, D. C., U. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdozent Dr. Wehmer  
in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

**Dr. O. Uhlworm in Cassel.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**

---

**III. Bd.**

**Jena, den 31. Dezember 1897.**

**No. 25/26.**

---

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

*Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.*

---

## **Original - Mittheilungen.**

*Nachdruck verboten.*

### **Das Verhältnis der denitrifizierenden Bakterien zu einigen Kohlenstoffverbindungen.**

Von

**Hjalmar Jensen**

aus

**Kopenhagen, z. Z. in Bonn.**

(Schluß.)

Diese bei den bisherigen Versuchen mit Reinkulturen erhaltenen  
Resultate dienen nun zur Erleuchtung der

#### **B. Versuche mit Rohkulturen.**

Sofern keine anderen Angaben erfolgen, sind diese Versuche in  
Erlenmeyer-Kolben von 500 ccm Rauminhalt ausgeführt, mit Watte  
verschlossen. Diese Kolben wurden nach Einfüllung der Nährlösung  
und bei gewöhnlicher Zimmertemperatur aufbewahrt; als Gärungs-  
erreger ist Gartenerde, Pferdemit, Kuhkot und Stroh benutzt.

Bei den Versuchen mit Erde wurde 50 g Feinerde (durch ein  $\frac{1}{2}$  mm Sieb geschlagen) mit 100 ccm einer 2proz. Salpeterlösung übergossen und sind nachher verschiedene Mengen von Glycerin (0 g, 0,5 g, 2,0 g, 5,0 g) zugesetzt.

Tabelle VIII.

	nach	4 Tag.	7 Tag.	9 Tag.	14 Tagen	16 Tag.	17 Tag.
Vs. No. 6	50 g Erde + 2 g $\text{NaNO}_3$ + 100 Aq.	Kein Glyc.	—	—	5 g Glyc. zuges.	8	+
" " 12	"	+0,5 "	8	+	4,5 g "	8	+
" " 17	"	+2,0 "	8	+	3,0 g "	0	0
" " 18	"	+2,0 "	8	0	1,0 g $\text{NaNO}_3$		
" " 24	"	+5,0 "	8	0	1,0 g $\text{NaNO}_3$		

	nach	19 Tagen	21 Tagen	22 T.	23 Tagen
Vs. No. 6	50 g Erde + 2 g $\text{NaNO}_3$ + 100 Aq.	Kein Glyc.	0	2 g $\text{NaNO}_3$ zug.	0
" " 12	"	+0,5 "	0	"	+
" " 17	"	+2,0 "	0	"	+
" " 18	"	+2,0 "	+	"	+
" " 24	"	+5,0 "	0	2 g $\text{NaNO}_3$ zuges.	+

	nach	26 Tagen	27 Tag.	35 Tagen	51 Tag.	52 Tag.
Vs. No. 6	50 g Erde + 2 g $\text{NaNO}_3$ + 100 Aq.	Kein Glyc.	schw. +	0	1 g $\text{NaNO}_3$ zug.	0
" " 12	"	+0,5 "	0	0	"	+
" " 17	"	+2,0 "	+	0	"	+
" " 18	"	+2,0 "	+ ( $-\text{N}_2\text{O}_3$ )	+		
" " 24	"	+5,0 "	+ ( $+\text{N}_2\text{O}_3$ )	+		

Aus der Tabelle 8 geht hervor, daß keine Gärung, keine Schaumbildung und keine Denitrifikation im Kolben ohne Glycerin (No. 6) im Laufe von 14 Tagen eingetreten war, wogegen die Schaumbildung schon nach 4 Tagen in den Kulturen mit 0,5 ccm bis 5,0 ccm Glycerin stark war. Nach 7 Tagen war der Salpeter verschwunden im Kolben mit 5 ccm Glycerin (No. 24) und in einem mit 2 ccm Glycerin (No. 18), während ein anderer mit 2 ccm (No. 17) und der mit 0,5 ccm Glycerin (No. 12) noch nach 14 Tagen Salpeterreaktion mit Diphenylamin-Schwefelsäure zeigte. Nach dieser Zeit wurde 1 g  $\text{NaNO}_3$  den vergorenen Kulturen (mit 2,0 ccm und 5,0 ccm Glycerin) zugesetzt, während die ganz unvergorene Kultur (ohne Glycerin) und die beiden noch nicht ganz vergorenen Kulturen (mit 0,5 ccm und 2,0 ccm) mit bezw. 5,0, 4,5 und 3,0 ccm Glycerin nachgefüllt wurden.

Beim Vergleich zwischen No. 18 und 24 sieht man, daß in No. 18 (mit 2 ccm Glycerin) nach 13 Tagen (nach dem 2. Zusatz von Salpeter) der Salpeter noch nicht zerstört war, auch fand ich keine  $\text{N}_2\text{O}_3$ , während in Kolben No. 5 schon nach 5 Tagen aller Salpeter fort war, und von 2 g des neu zugesetzten Salpeters ist später jedenfalls ein Teil zerstört, weil  $\text{N}_2\text{O}_3$  nachgewiesen werden konnte. Bei No. 6, 12 und 17 beobachtete ich, daß nach dem Zusatz von Glycerin ein Verschwinden von Salpeter in No. 17 schon nach 2 Tagen, in No. 12 nach 3 Tagen und in No. 6 nach 5 Tagen eintrat, was sich

leicht erklären läßt, wenn man sich erinnert, daß No. 12 und namentlich No. 17 infolge ihrer früheren Zugabe von 0,5 ccm und 2,0 ccm Glycerin schon etwas Salpeter zerstört hatten. Bei fortdauerndem Zusatz von  $\text{NaNO}_3$  konnte im ganzen 5–6 g Salpeter gespalten werden. Es zeigt sich also, daß bei Ueberschuß von Salpeter und nicht genügender Menge von Glycerin die Nährflüssigkeit, wenn das vorhandene Glycerin verbraucht ist, „glycerinhungrig“, bei Ueberschuß von Glycerin „salpeterhungrig“ wird. Ein erneuerter Zusatz von Glycerin bzw. Salpeter hilft dem Hunger ab.

In den Reinkulturen zeigte das Glycerin sich als eine nicht oder vielleicht sehr schwer brauchbare Kohlenstoffquelle. Wie vereinbart sich nun dieses mit den obenerwähnten Versuchsergebnissen mit Erde?

Die Erklärung liegt in der Beobachtung, daß die gärenden Kulturen sehr oft einen starken Geruch von Buttersäure und anderen Fettsäuren zeigten. Die Versuche mit Reinkulturen gaben das Resultat, daß Buttersäure eine vorzügliche Kohlenstoffquelle ist; in den unreinen Kulturen wird zweifellos das Glycerin durch Fäulnisbakterien zerlegt, und die Produkte dienen den denitrifizierenden Bakterien als Kohlenstoffquelle, und zwar als Energiequelle zur Zerlegung der Salpetermoleküle. Weshalb in dieser Hinsicht die Bakterien der Buttersäure einen Vorzug z. B. vor Zucker geben, vermag ich nicht zu erklären.

Stroh zeigt dasselbe Verhältnis wie Erde, nur noch deutlicher, weil es eine nur sehr geringe Menge der von diesen Organismen assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen enthält, und die Zersetzung des Strohes durch Fäulnisbakterien verhältnismäßig langsam vor sich geht. Tabelle IX giebt eine Uebersicht über diese Versuche.

Tabelle IX.

	nach	3 Tagen	8 Tagen	15 Tagen	22 T.
No. 1	5 g Stroh + 1 g $\text{NaNO}_3$	Schwach	0	1 g $\text{NaNO}_3$ zuges.	+
„ 2	+ 100 Aq. + 2 ccm Glyc.	+	1 g $\text{NaNO}_3$ zuges. Vegetat. v. Penicill	+	+
„ 3	5 g Stroh + 1 g $\text{NaNO}_3$		+	2 g Glyc. zuges.	0
„ 4	+ 100 Aq. kein Glycerin	—	+	kein Glyc.	+
				1 g $\text{NaNO}_3$	0
				—	0

Als kein Glycerin zugesetzt war (No. 4), dauerte es 22 Tage, bevor 1 g  $\text{NaNO}_3$  zerstört wurde. Nach sofortiger Zugabe von 2 g Glycerin war der Salpeter schon nach 8 Tagen verschwunden (1) und ein weiteres Gramm Salpeter wurde in 7 Tagen vergoren. Nun war die Flüssigkeit „glycerinhungrig“ geworden, und konnte ein drittes Gramm  $\text{NaNO}_3$  nicht vergären.

Die Notwendigkeit des Vorhandenseins einer Kohlenstoffquelle zeigte sich bei einem anderen Versuche (No. 2), in welchem das sofort zugesetzte Glycerin zufälligerweise durch eine Infektion und sehr reichliches Wachstum von *Penicillium* wieder fortgenommen wurde. In diesem Kolben ist die Salpeterzerstörung gar nicht zum Ende geführt; selbst nach 22 Tagen war Salpeter noch vorhanden. Das *Penicillium* hat alle assimilierbaren Kohlenstoff-

verbindungen verbraucht, und ohne solche tritt keine Denitrifikation ein. Die ganz schwache Schaumbildung, welche ich hierbei in den ersten Tagen bemerkte, war der Anfang der Denitrification, aber diese wurde bald von *Penicillium* aufgehalten. Endlich im Kolben No. 3, der ursprünglich kein Glycerin bekommen hatte, und dessen Inhalt infolgedessen keine Denitrifikation zeigte, trat eine solche ein, als sie nach 8 Tagen mit 2 ccm Glycerin versehen worden war. Nachher konnte ich noch einmal 1 g  $\text{NaNO}_3$  hinzusetzen. Hier zeigt sich wieder deutlich das enge Verhältnis zwischen dem Verbrauch von leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen, in diesem Falle von Glycerin, welches durch Fäulnisbakterien zersetzt war, und der Intensität der Denitrifikation. Man beobachtet auch hier wieder einen Salpeterhunger bzw. Kohlenstoffhunger.

Was nun endlich die Faeces (Pferdekot, Kuhkot) betrifft, so ist schon mehrmals von anderen Forschern gezeigt, daß die verschiedenen Sorten des Kotes ein sehr ungleiches Denitrifikationsvermögen haben, und daß Pferdemit am stärksten wirkt, dagegen Kuhkot und Schafkot schwächer. Ferner ist gefunden, daß verschiedene Mengen von Kuhkot eine ungleiche Menge von Salpeter zersetzen können<sup>1)</sup>.

Ich habe nur Gelegenheit gehabt, mit Pferde- und Kuhkot zu arbeiten, und wurden, wie Photogr. No. 1 zeigt, beide Beobachtungen bestätigt. In den 6 abgebildeten Kulturen ist unsterilisiertes ganz frischer Pferdemit und Kuhkot in Anwendung gekommen. Jeder Kolben enthielt 0,5 g  $\text{NaNO}_3$ , 50 ccm Wasser (der Rauminhalt der Kolben betrug 80 ccm), sowie 10 g bzw. 5 g oder 2,5 g Mist. Die Kulturen wurden in einen Thermostaten (30°) gestellt. Nach 3 Tagen ist die photographische Aufnahme gemacht. Die Größe der Schaumbildung zeigt deutlich, daß die Gärung der Pferdemitkulturen stärker als diejenige der Kuhkotpulturen ist, und ferner, daß die Gärungsintensität proportional mit der angewandten Menge von Mist ist.

Diese Verschiedenheiten konnten entweder von den denitrifizierenden Bakterien oder von dem Nährboden herrühren. Schon Schneidewind<sup>2)</sup> behauptet, daß die stärkere Wirkung einer größeren Menge von Mist in der zugleich größeren Menge von Bakterien seinen Grund hat. Waren die verschiedenen Bakterienmengen der einzige Grund, konnten die im Photogr. No. 2 abgebildeten Kulturen nicht ein solches Aussehen haben, wie es das Bild zeigt. In diesen 3 Kulturen war bzw. 10 g, 5 g und 2,5 g Kuhkot von derselben Probe wie in Photogr. No. 1 angewendet, aber diese wurden in 2 aufeinanderfolgenden Tagen in Dampf sterilisiert, und nachher jede mit 0,05 ccm einer durch Schütteln von Pferdemit und Wasser erhaltenen Flüssigkeit geimpft. (Nachstehend als „Kotflüssigkeit“ bezeichnet.) Nachdem diese Kulturen 2 Tage im Thermostaten gestanden hatten, wurden sie photographiert, und trotz der gleichen Menge der zugesetzten Bakterien sieht man einen ebenso

1) Schneidewind, Journ. f. Landw. 1897. p. 188.

2) l. c.

großen Unterschied in der Gärungsintensität wie bei den unsterilisierten Kulturen. (Photogr. No. 1.)

Dieser Versuch, in Verbindung mit den früher erwähnten mit Reinkulturen angestellten Versuchen läßt vermuten, daß wir den Grund des ungleichstarken Gärungsvermögens (sowohl der verschiedenen Mistarten als der verschiedenen Quantitäten von Mist) in dem Nährboden der Bakterien, und zwar der Menge der ihnen zur Verfügung stehenden assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen suchen müssen.

Ist es so, dann müssen wir auch die Wirkung des Kuhkotes durch Zusatz von Kohlenstoffverbindungen erhöhen können. Die Resultate solcher Versuche zeigt Tabelle X. Man findet hier ganz dasselbe Ergebnis wie bei den ähnlichen Versuchen mit Stroh und Erde. Wurde zu 10 g Kuhkot 2 g Glycerin zugesetzt, so wirkte dieser kräftiger als Pferdemist ohne Glycerin.

Tabelle X.

nach	1 T.	4 T.	8 Tag.	9 Tagen	11 T.	12 T.	14 Tagen	17 T.	24 T.
Pferdem. + 1 g NaNO <sub>3</sub> - 100 Aq. + 2 ccm Glyc.	S	0	0	0	1 g NaNO <sub>3</sub> Zuges.	+	+	+	
Pferdem. + 1 g NaNO <sub>3</sub> - 100 Aq.	S	+	+	+	2 ccm Glyc. Zuges.	+	0	0	1 g NaNO <sub>3</sub> Zuges.
Kuhkot + 1 g NaNO <sub>3</sub> - 100 Aq. + 2 ccm Glyc.	—	+	schw.	+	0	+	+	schw.	+
Kuhkot + 1 g NaNO <sub>3</sub> - 100 Aq.	—	+	+	+	0	+	+	schw.	+

Mehrmals konnte man (wie auch bei den Versuchen mit Pferdemist + Glycerin) Salpeter zusetzen, dagegen wurden die Kulturen, ohne Glycerin bald kohlenstoffhungrig; die Schaumbildung hörte auf, ohne daß der Salpeter vollständig zerstört gewesen wäre. Durch einen Zusatz von Glycerin wurde die Gärung sofort wieder eingeleitet und neu zugesetzter Salpeter wurde bald zerstört.

Es war nun zu erwarten, daß Kulturen mit wässerigen Auszügen von Pferde- bzw. Kuhkot, welche mit Reinkulturen der Bakterien geimpft waren, einen ähnlichen Unterschied wie die abgebildeten Mistkulturen zeigen, und zwar, daß die Kulturen mit Auszügen von Pferdemist infolge höheren Gehaltes von leicht assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen günstiger wirken wie Kulturen mit Auszügen von Kuhkot.

Für diese Versuche wurden 10 ccm von Mistauszügen benutzt. 100 g Mist sind in Kolben mit 250 ccm Wasser übergossen und nach viertelstündigem Schütteln in einem Schüttelapparat filtriert.

Die Pferdemistauszüge hatten eine braune Farbe, die Kuhkotauszüge eine Farbe wie helles Bier. Nach Zusatz von 0,2 Proz. Salpeter und zweimaliger Sterilisation im Dampfe wurde die Flüssigkeit mit Reinkulturen geimpft. Das Resultat war indessen nicht das erwartete.

Tabelle XI.

	nach	2 Tagen	3 Tag.	12 Tagen
Kulturen mit Pferdemistauszügen		+ K	8	+
„ „ Kuhkotalauszügen		schw. 8	8	+ aber etwas schwächer.

Die Versuche mit Kuhkotalauszügen verliefen sogar ein wenig schneller; die Schaumbildung trat hier früher ein, und die am 12. Tage ausgeführte Reaktion mit Diphenylamin war etwas schwächer, wie bei den Versuchen mit Pferdemistauszügen. Die gleichzeitig mit den Kulturen ausgeführten Analysen der Auszüge zeigen auch, daß die Menge von organischer Trockensubstanz ungefähr dieselbe war:

Tabelle XII.

	Trockensubstanz	Asche	organ. Trockensubst.
Pferdemistauszüge	0,374 Proz.	0,189 Proz.	0,185 Proz.
Kuhkotalauszüge	0,251 „	0,093 „	0,151 „

Daß der Kuhkotalauszug etwas günstiger wirkt, kann dadurch erklärt werden, daß frischer Pferdemist vielleicht Stoffe enthält, welche den denitrifizierenden Bakterien ungünstig sind und deren Wirkung verzögern. Vielleicht können solche von der Galle herrühren.

Andererseits liegt aber auch die Möglichkeit vor, daß der frische Kuhkot kleine Mengen von Stoffen enthält, welche leicht assimilierbar sind, während solche im Pferdemist in einem ebenso schnell assimilierbaren Zustande sich nicht vorfinden. Jedenfalls ist die Quantität solcher Stoffe, wenn überhaupt vorhanden, im Kuhkot nur sehr gering.

In unseren früheren Versuchen haben wir nachgewiesen, daß Glykose, wenn diese allein als Kohlenstoffnahrung der denitrifizierenden Bakterien gegeben wird, nicht verwendbar ist und erst dann verbraucht wird, wenn die Bakterien außerdem eine andere leicht assimilierbare Kohlenstoffquelle haben. Ebenso ist es nachgewiesen, daß von einer direkt unbrauchbaren Kohlenstoffquelle, wie Glycerin, durch andere in Erde vorkommenden Bakterien nutzbare Stoffe gebildet werden können. Dasselbe hat Déhérais in Bezug auf die Stärke nachgewiesen. Die Wiederkäuer haben eine stärkere Verdauung wie die Pferde, und ist zu erwarten, daß der frische Pferdekot eine größere Menge unbenutzter organischer Nährstoffe als der Kuhkot enthält. Es war nun zu versuchen, ob im Pferdemist bei dessen Aufbewahrung im nicht sterilisierten Zustande eine größere Menge von Kohlenstoffverbindungen für die denitrifizierenden Bakterien assimilierbar wird als im Kuhkot. Das Ueberbleibsel von den Mistproben, von welchen die oben erwähnten Auszüge gemacht waren, wurde 8 Tage lang in bedeckten Flaschen aufbewahrt und sind nachher kalte wässrige Auszüge ganz wie früher hergestellt. Die Pferdemistauszüge waren diesmal noch dunkler wie zuerst. Auch bei diesem Versuche bildeten die Kuhkotalauszüge den besseren Nährboden, indem diese Kulturen nach 5 Tagen keine Salpeterreaktion, aber noch starke Schaumbildung zeigten, während die Kulturen mit Pferdemistauszügen

nur einen schwachen Schaum bildeten und nach 8 Tagen noch Salpeterreaktion gaben.

Es enthielten:

Tabelle XIII.

	Trockensubst.	Asche	organ. Trockensubst.
Auszüge von 8 Tagen altem Pferdemist	0,676 Proz.	0,353 Proz.	0,323 Proz.
„ „ „ „ „ Kuhkot	0,581 „	0,181 „	0,550 „

In den beiden Mistsorten ist die Menge von organischen, in Wasser löslichen Verbindungen gegen früher vermehrt worden, und am stärksten in dem Kuhkot. Dieses rührt vielleicht von dem verschiedenen Wassergehalt her, indem

die Kuhkotprobe enthielt 83,2 Proz. Wasser

„ Pferdemistprobe „ 72,8 „ „

Der Kuhkot hatte also ca. 10 Proz. mehr Wasser, war nicht so locker und gewährte der Luft nicht so reichlichen Zutritt wie der Pferdemist. Hierdurch ist die Zersetzung des Kuhkotes durch anaerobe Fäulnisbakterien vielleicht beschleunigt.

Jetzt wurde eine weitere Versuchsreihe mit beiden Mistsorten angestellt, in welcher verschiedene Mengen von Mist im sterilisierten und unsterilisierten Zustande in Anwendung kamen. Die sterilisierten Mistkulturen wurden teils mit einer Reinkultur der denitrifizierenden Bakterien geimpft, teils sind sie mit 0,05 ccm einer Kotflüssigkeit von Pferdemist, also einer Mischung von denitrifizierenden und Fäulnisbakterien versetzt.

Die Versuchsergebnisse gehen aus der Tabelle XIV hervor.

Die unsterilisierten Kulturen zeigten, wie schon erwähnt, die normalen Verhältnisse: eine bessere Wirkung des Pferdemistes und eine mit der angewendeten Mistmenge proportionale Schaumbildung.

In den sterilisierten Kulturen waren die Gärungserscheinungen folgende:

1) In den ersten Tagen war die Schaumbildung der Kuhkulturen stärker als die der Pferdemistkulturen; die Kuhkulturen enthalten eine größere Menge von direkt verwendbaren Kohlenstoffverbindungen (vergl. Vers. mit Auszügen von Kuhkot und Pferdekot).

2) Nach 4 Tagen zeigte sich das umgekehrte Verhältnis; die Schaumbildung der Pferdemistkulturen wurde jetzt viel stärker als die der Kuhkulturen; der Pferdemist besitzt eine größere Menge von schwer assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen.

3) Die starke Schaumbildung der Pferdemistkulturen trat bei den mit Reinkulturen geimpften Versuchen später ein als bei den mit Kotflüssigkeit geimpften; die schwer verwendbaren Kohlenstoffverbindungen des Pferdemistes können durch Mitwirkung von Fäulnisbakterien in leicht verwendbare verwandelt werden. Geschieht dieses nicht, so





lich werden die unangenehmen Stoffe durch Fäulnisbakterien zerstört, oder unter solchen Verhältnissen die allgemeinen Lebensbedingungen der Bakterien so günstig gestaltet, daß die ungünstigen Einflüsse dann nicht mehr in Betracht kommen.

Diese Versuchsergebnisse können vielleicht einen Beitrag zur Erklärung verschiedener Beobachtungen geben.

Die denitrifizierenden Bakterien kommen überall vor, im Mist, in der Erde, auf dem Stroh, in der Luft, auf allen Geräten u. s. w., aber sie können ihre Wirkung nur dann ausüben, wenn ihnen Salpeter und brauchbare Kohlenstoffverbindungen in genügender Menge dargeboten werden. Die letzteren werden nicht selten von Fäulnisbakterien aus schwerer zersetzbaren Kohlenstoffverbindungen gebildet.

Von den Beobachtungen verschiedener Forscher erwähnen wir kurz folgende:

1) P. Wagner fand: Stroh oder Erde allein wirkt sehr schwach zersetzend, aber mit einander gemischt rapid; ebenso wird die denitrifizierende Wirkung des Kuhkots und Pferdemistes durch Zugabe von Stroh beschleunigt<sup>1)</sup>. Das Stroh ist wahrscheinlich bei diesen Versuchen durch Fäulnisbakterien zersetzt worden und hierdurch sind die Kohlenstoffverbindungen, welche den Denitrifikationsprozeß beschleunigen, gebildet worden.

2) Nach Angabe von Déhérais kann ein Zusatz von Stärke zu Erde eine sehr lebhaft Denitrifikation hervorrufen<sup>2)</sup>. Nach meinen Versuchen kann die Stärke den denitrifizierenden Bakterien in Reinkultur als Kohlenstoffquelle nicht dienen.

Déhérais hat indes nicht mit Reinkulturen der Bakterien gearbeitet. Durch Fäulnisbakterien wurde bei den Versuchen von Déhérais die Stärke umgebildet, und sind sehr brauchbare Verbindungen, wie Buttersäure und dergl. bei dessen Versuchen neu gebildet.

3) Kuhkot wirkt nach Angabe von Maercker & Schneidewind schwächer als Pferdemit, und der Schafkot noch schwächer als Kuhkot<sup>3)</sup><sup>4)</sup>). Dies dürfte dadurch zu erklären sein, daß die viel intensivere Verdauung der Wiederkäuer deren Kot geringere Mengen von nutzbaren Kohlenstoffverbindungen (Stärke und dergl.) enthält.

4) Kuhkot wirkt unter gewissen Umständen viel stärker als Pferdemit und Schafkot<sup>5)</sup><sup>1)</sup>.

In diesen Versuchen hat Pfeiffer 200 g Kuhkot gegen 120 g Pferdemit angewendet. Pfeiffer macht keine Angabe von dem Wassergehalt der Mistarten, dagegen teilt Schneidewind mit, daß die 71 g Pferdemit entsprechen 18,0 g Trockensubstanz (wie viele organische Substanzen?) und die 71 g Kuhkot, 24,15 g Trockensubstanz.

1) Wagner, Landw. Versuchsst. Bd. XLVIII. 1897. p. 338.

2) Déhérais, Ann. agron. 1897.

3) Maercker, Jahrb. d. Agrikulturchem. Versuchsst. Halle. 1896. p. 53.

4) Schneidewind, Journ. f. Landw. 1897. p. 182.

5) Ehrenberg, Zeitschr. f. physiol. Chemie 1887. p. 465.

6) Pfeiffer, Landw. Versuchsst. 1897. p. 241—42.

7) Schneidewind, l. c. p. 180.

Die Trockensubstanz (und wahrscheinlich namentlich die organische Trockensubstanz, vergl. die Analysen) war also größer in den Versuchen mit Kuhkot als in den anderen. Daher das Resultat, welches durch die vorstehende Menge der assimilierbaren Kohlenstoffverbindungen beeinflusst ist.

5) Durch größere Mistmengen werden größere Salpetermengen zerstört<sup>1)</sup>.

Schneidewind erklärt dieses Verhältnis durch eine Massenwirkung der Bakterien. Wahrscheinlicherweise spielt doch die gleichzeitig größere Menge von Kohlenstoffverbindungen die wichtigste Rolle.

6) Mist und Stroh wirken gar nicht denitrifizierend, wenn nur eine kleine Menge davon der Erde zugesetzt werden<sup>2)</sup>.

Diese sehr wichtigen Versuchsergebnisse scheint Déhérais dadurch zu erklären zu suchen, daß eine Denitrifikation nur stattfindet, wenn sehr große Quantitäten von Bakterien in die Erde gelangen, wie bei den Wagner'schen Versuchen. Aus unseren Versuchen geht indessen hervor, daß die Nichtwirkung der kleineren Düngermenge wahrscheinlich von der damit folgenden kleineren Kohlenstoffmenge herrührt, nicht von der kleineren Bakterienmenge.

7) Alter Mist verliert seine denitrifizierende Wirkung<sup>3)4)</sup>.

Durch die Humusbildung des Mistes und überhaupt durch bakterielle Stoffumwandlungen verliert der Mist organische Verbindungen. Durch ein solches Aermerwerden an Kohlenstoffverbindungen wird die Denitrifikationsfähigkeit ebenfalls vermindert.

*Nachdruck verboten.*

## Bemerkungen zu vorstehender Arbeit über „Das Verhältnis der denitrifizierenden Bakterien zu einigen Kohlenstoff-Verbindungen“.

Von

A. Stutzer.

Die Arbeiten des Herrn Jensen, welche von ihm in unserem bakteriologischen Laboratorium ausgeführt wurden, sind von großem Werte für die Erklärung gewisser Vorgänge im praktischen landw. Betriebe. Ich gestatte mir nachstehend die Hauptpunkte seiner Arbeit mit den Versuchsergebnissen anderer Forscher, namentlich von M. Maercker und P. Wagner, kurz zusammenzufassen und einige Schlußfolgerungen daran zu knüpfen.

Jensen fand:

1) Die Zerstörung des Salpeters, unter Freiwerden von Stickstoff, erfolgt durch die denitrifizierenden Bakterien nur dann, wenn den

1) Schneidewind, l. c. p. 188.

2) Déhérais, l. c. p. 73 ff.

3) Schneidewind, l. c. p. 182.

4) Wagner, l. c. p. 303 ff.

letzteren gewisse C-Verbindungen zur Verfügung stehen. Diese verwenden sie vermutlich zu dem Zwecke, um die nötige Energie zur Zertrümmerung der Salpeter-Moleküle sich zu verschaffen. Den Bakterien wird die Energie in Form von chemischer Spannkraft geliefert.

2) Giebt man den denitrifizierenden Bakterien, neben Salpeter, steigende Mengen einer als Energiequelle dienenden geeigneten C-Verbindung, so macht man folgende Beobachtungen:

Sind geringe Mengen des C-Materials vorhanden, so können die Bakterien nur wenig von dem Salpeter zerstören. Ein etwaiger Ueberschuß des Salpeters wird dann, auch bei Einhaltung sonst günstiger Lebensbedingungen für die Bakterien, unter Freiwerden von Stickstoff nicht zersetzt.

Andererseits zerstören die Bakterien bei reichlicherem Vorhandensein einer für sie verwertbaren Energiequelle entsprechend größere Mengen von Salpeter. Sind noch größere Mengen von geeigneten C-Materialien vorhanden, so verschwindet der Salpeter vollständig, indem ein Ueberschuß von unzersetzten C-Verbindungen zurückbleibt.

Die Zerstörung des Salpeters erfolgt somit annähernd proportional der für die Bakterien verwertbaren Energie.

3) Reinkulturen von denitrifizierenden Bakterien erhielten, außer den nötigen Mineralsalzen und Salpeter als alleinige C-Quelle:

a) Glykose, Stärkemehl (teils im gekochten, teils im trockenen sterilisierten Zustande) oder Glycerin. Sie vermochten diese C-Verbindungen nicht zu verwerten und eine Denitrifikation des Salpeters nicht herbeizuführen. (Die Versuchsdauer betrug 8—10 Tage bei 30° C.)

b) Wurde als C-Quelle Zitronensäure, Milchsäure oder Buttersäure gegeben, so verlief die Denitrifikation in stürmischer Weise.

c) Ameisensäure war unfähig von den Bakterien verwertet zu werden.

d) in Mischungen von Substanzen der Gruppe a mit solchen von b gestaltete sich die Denitrifikation etwas langsamer, als wenn nur die unter b genannten organischen Säuren genommen wurden. Jedoch ist in diesen Mischungen das Kohlehydrat (die Versuche sind mit Glykose ausgeführt) allmählich zersetzt und verwertet. Die Zersetzung des Kohlehydrates wird vermutlich erst dann erfolgen, wenn die Bakterien auf Kosten der organischen Säure sich stärker vermehrt haben.

4) Werden zu den Versuchen denitrifizierende Bakterien im Gemenge mit Fäulnisbakterien, in gleicher Weise wie unter 3 a angegeben, benutzt, indem man beispielsweise Erde mit einer dünnen Lösung von Glycerin übergießt, so zersetzten die in der Erde enthaltenen Fäulnisbakterien das Glycerin in der Weise, daß es nun sehr leicht als Energiequelle für die denitrifizierenden Bakterien zu gebrauchen ist, und zwar findet auch hier die Zersetzung des Salpeters annähernd proportional der den Bakterien zur Verfügung stehenden Energie statt.

Als bei einigen Versuchen Erde ohne Zusatz von Glycerin (und ohne Zugabe einer anderen C-Verbindung) verwendet wurde, war bei

30° C innerhalb 14 Tagen eine Denitrifikation noch nicht nachweisbar.

5) Stroh, welches mit Salpeterlösung übergossen war, führte bei 30° C erst nach Verlauf von 22 Tagen eine vollständige Zersetzung des Salpeters herbei (5 g Stroh, 1 g Salpeter, 100 g Wasser.)

Stroh mit Zugabe geringer Mengen von Glycerin bewirkte innerhalb weniger Tage eine vollständige Vergärung des Salpeters. Nachdem mehrere Male Salpeter zugesetzt und vergoren war, unterblieb eine weitere Zerstörung des Salpeters. Wir vermuteten, daß die C-Quelle versiegt sei und konnten tatsächlich durch Zugabe von Glycerin eine kräftige Vergärung des Salpeters neu einleiten.

Bei einem anderen Versuche ist Stroh mit geringen Mengen von Glycerin vermischt und die Mischung durch Sporen eines Schimmelpilzes infiziert. Nach Verlauf von 22 Tagen war bei 30° eine Vergärung des Salpeters noch nicht herbeigeführt, weil der sich schnell entwickelnde Schimmelpilz die C-Quelle des Glycerins vermutlich für sich verwertet hatte.

6) Pferdekot übt eine viel stärkere salpeterzersetzende Wirkung, wie Kuhkot aus. Verwendet man Kuhkot von kranken Tieren, bei denen die Verdauung keine normale ist, so wird die Wirkung des Kuhkotes verstärkt.

7) Größere Mengen von Kot können größere Mengen von Salpeter zersetzen. Zweifellos besteht zwischen diesen beiden Faktoren ein gewisses proportionales Verhältnis, vorausgesetzt, daß man bei vergleichenden Versuchen einen Kot von genau derselben Beschaffenheit benutzt.

Verschiedene Mengen von Kuhkot wurden im Dampf wiederholt sterilisiert und mit je 0,05 ccm einer durch Schütteln von Pferdemist mit Wasser erhaltenen Flüssigkeit infiziert.

Es waren jetzt die Mengen des Salpeters und die Menge der Bakterien gleichgestellt. Ungleich war die Menge des sterilen Kotes. Die Vergärung des Salpeters verlief proportional der Menge des Kotes. Hierdurch ist der Nachweis geliefert, daß nicht die Zahl der denitrifizierenden Bakterien für die Intensität dieser Gärung in Betracht kommt, sondern die Menge der für sie zur Verfügung stehenden Nährstoffe.

Auf Grund der bisherigen Erfahrungen müssen wir annehmen, daß unter diesen Versuchsbedingungen lediglich die Quantität der von den Bakterien verwertbaren Energie (in Form von C-Verbindungen, welche von ihnen verwertet werden können) einen Maßstab für die Gärungs-Intensität bildet.

8) Weitere Versuche mit verschiedenen Mengen von sterilisiertem Kuhkot einerseits und sterilisiertem Pferdekot andererseits, welche später mit minimalen Mengen einer Kotflüssigkeit geimpft wurden, ergaben das bemerkenswerte Resultat, daß die Vergärung des Salpeters in den Kuhkotkulturen zuerst eingeleitet wurde, indes sind diese Kulturen bezüglich der Intensität der Gärung sehr schnell von den Pferdemistkulturen überholt. Wir müssen hieraus schließen, daß der Kot von Kühen zwar eine relativ größere Menge von solchen C-Verbindungen enthält, welche direkt für die denitrifizierenden Bakterien

als Energiequelle benutzt werden, wie der Pferdekot, indes kann die absolute Menge dieser Verbindungen auch in Kuhkot nur gering sein. Der Pferdekot besitzt einen absolut und relativ größeren Gehalt an solchen Energieerzeugern, deren Wirkung erst durch die Thätigkeit von Fäulnisbakterien für die denitrifizierenden Organismen in Betracht kommt.

Dieser Unterschied hängt ohne Zweifel damit zusammen, daß die in der Nahrung enthaltenen C-Verbindungen von den Wiederkäuern im allgemeinen besser ausgenutzt werden als vom Pferd.

Das Schlußresultat aller dieser Beobachtungen besteht darin, daß eine Thatsache wie ein roter Faden durch das ganze Gewebe von Versuchen sich hindurch zieht, nämlich:

Die Denitrifikation ist nur dann möglich, wenn den betreffenden Organismen gewisse Kohlenstoffverbindungen oder mit anderen Worten eine Energiequelle zur Zertrümmerung der Salpetermoleküle zur Verfügung steht.

Wir wollen nun sehen, in welcher Weise gewisse Thatsachen bei der Aufbewahrung und der Verwertung des Mistes im Lichte dieser Erkenntnis sich erklären lassen und berücksichtigen nachstehend insbesondere die Erfahrungen von M. Maercker und P. Wagner, da diese Forscher in neuerer Zeit mit Stallmistfragen besonders eingehend sich beschäftigten<sup>1)</sup>.

I. Maercker erhielt bei Versuchen über den Stickstoff im Stalldünger, im Vergleich zum Stickstoff des Salpeters, eine Wirkung, die von + 73 Proz. bis — 23 Proz. schwankte, wenn man den durch Salpeterstickstoff erzeugten Mehrertrag = 100 setzt. Maercker sagt: „auf die Frage: „wie wirkt der Stalldünger? können wir nur die Antwort geben: unter Umständen ausgezeichnet, andererseits aber auch unter Umständen sehr schlecht; jedenfalls ist seine Stickstoffwirkung vorläufig vollkommen unberechenbar. Die Stalldüngerproben mit dem höchsten Gehalt an löslichen Stickstoffverbindungen zeigten im allgemeinen die beste Stickstoffwirkung. Es giebt jedoch hiervon bei unseren Versuchen zahlreiche Ausnahmen“. Maercker fügt noch hinzu, dieser Unterschied sei wahrscheinlich dadurch bedingt, daß der stickstoffärmere Mist eine größere Zahl von denitrifizierenden Bakterien enthält. Der Schlußfolgerung Maercker's bezüglich der Zahl der salpeterzerstörenden Bakterien, welche in seinen neueren Arbeiten immer wieder betont wird, vermag ich mich nicht anzuschließen. Eine ungünstige Stickstoffwirkung des Stallmistes kann selbstverständlich dadurch veranlaßt sein, daß der Mist den Stickstoff in schwerer aufnehmbaren, also in unlöslicherem Zustande enthält, wie ein anderer Mist. Sind dagegen in zwei Stalldüngerproben die Mengen an leicht löslichen Stickstoffverbindungen (Ammoniak, Amid, Salpeter) gleich, so kann eine etwaige Verschiedenheit in der Wirkung nur dadurch veranlaßt sein, daß in dem einen Falle den salpeterzerstörenden Bakterien eine größere Menge von Energie zur

1) Jahrbuch der agrik.-chem. Vers.-Stat. Halle 1896 und 1897, Bd. XLVIII.



Zerstörung der Salpeter-Moleküle zur Verfügung stand, wie in den anderen.

Die „völlige Unberechenbarkeit der Wirkung des Stallmistes“ wird beseitigt sein, sobald es uns gelingt ein Verfahren aufzufinden, um die Energie annähernd zu messen, welche den salpeterzerstörenden Bakterien in der betreffenden Mistprobe zur Verfügung steht. Selbstverständlich ist außerdem, in der bisherigen Weise, der Gehalt des Mistes an löslichen (sogen. wirksamem) Stickstoff und an Gesamtstickstoff zu ermitteln. Je geringer die Energie und je größer die Mengen an „wirksamem“ Stickstoff sind, desto größer sind die Garantien für eine gute Wirkung des Stallmiststickstoffes. Beim Lagern des Mistes im Boden geht wahrscheinlich ein Teil der Energie durch die Einwirkung anderer Bakterien verloren, indes dürfte ein annähernd relatives Verhältnis zwischen den beiden wertbestimmenden Faktoren doch bestehen bleiben und im Ernteertrage zum Ausdruck kommen.

In welcher Weise die Messung der Energie zu geschehen hat, lasse ich vorläufig dahingestellt. Man wird das Verfahren jedenfalls unter Anwendung von Bakterien ausführen müssen und ist es möglich, daß man in folgender Weise zum Ziele gelangen kann:

Eine genügend große Durchschnittsprobe von Mist wird mit einer Lösung übergossen, welche eine bestimmte, aber geringe Menge von Salpeter enthält. Der Versuch wird bei einer Temperatur von 30° C ausgeführt, welcher Wärmegrad die Entwicklung der betreffenden Bakterien sehr beschleunigt. Der Salpeter wird unter Schaumbildung zersetzt werden; man giebt von Zeit zu Zeit neue Mengen von Salpeter hinzu und ermittelt wieviel Gramm Salpeter innerhalb einer festzusetzenden Zeitdauer durch je 100 g oder 1000 g Mist sich zerstören läßt. Je mehr Salpeter zerstört wird, desto größer ist die Menge der diesen Bakterien zur Verfügung stehenden Energie. — Ich habe diese Methode noch nicht geprüft, glaube indes, daß sie mit etwajen, als nötig sich erweisenden Abänderungen zum gewünschten Ziele führen kann und stehen wir dann vielleicht nicht mehr so ratlos wie bisher der voraussichtlichen relativen Wirkung des in verschiedenen Mistsorten enthaltenen Stickstoffs gegenüber.

## II. Frischer strohiger Mist.

Wird frischer strohiger Mist untergepflügt und kurz darauf die Bestellung ausgeführt, so ist der Ernteertrag ein geringerer, wie bei der Anwendung einer gleichen Masse von mäßig verrottetem Mist und zwar auch dann, wenn in beiden Fällen eine gleiche Menge Stickstoff in wirksamer Form (als Ammoniak, Amid, Salpeter) gegeben wurde. Die Wirkung des frischen Düngers erfolgt nicht proportional der Menge des wirksamen Stickstoffs (Maercker, Jahrbuch der agrik.-chem. Versuchsstation Halle. 1896. p. 53). Diese Thatsache erklärt sich dadurch, daß die salpeterzerstörenden Bakterien in dem frischen Mist eine ungleich größere Menge disponibler Energie zur Spaltung der Salpeter-Moleküle vorfinden, wie im alten Mist. Die Zahl der Bakterien kommt hier nicht, oder nur in untergeordnetem Maße in Betracht, sondern die Menge des Nährstoffes, welche die Bakterien zur Ausübung einer bestimmten Wirkung nötig haben.

### III. Alter, verrotteter Dünger.

Von altem, verrottetem Dünger hat man eine erhebliche Salpeterzersetzung nicht zu fürchten (s. auch Versuche von Schneidewind, Jahrb. d. Vers.-Stat. Halle. 1896. p. 68). Aber es gelingt auch durch weitgehende Humifizierung nicht, die Zerstörung des Salpeters vollständig aufzuheben (P. Wagner, Landw. Vers.-Stat. Bd. XLVIII. p. 360). Diese Beobachtungen stimmen vollständig mit unseren Erfahrungen überein. Ein alter verrotteter Dünger vermag den Bakterien eine große Menge von Energie nicht zu liefern, weil die betreffenden Energie-Erzeuger (gewisse Kohlenstoffverbindungen) bereits ziemlich weit zersetzt sind. Die Zerstörung des Salpeters wird bei Mangel an disponibler Energie vermindert.

IV. Soll mäßig verrotteter Mist unmittelbar vor der Bestellung untergepflügt werden?

Bringt man einen mäßig verrotteten, gut behandelten Mist (d. h. einen solchen, in dem lebhafte Oxydationsvorgänge beim Aufbewahren nicht stattfanden und in welchem weder starke Verluste an Masse durch Entweichen von Kohlensäure vorkamen, noch eine nennenswerte Bildung von Salpeter erfolgte), in den Boden, so wird es nicht gleichgiltig sein, ob wir unmittelbar darauf die Bestellung des Feldes nachfolgen lassen oder zunächst einige Zeit warten.

Der mäßig verrottete Mist enthält immer noch ein gewisses Quantum an Energie, welches zur teilweisen Zerstörung des im Boden neugebildeten Salpeters dient. Kommt die junge Pflanze mit einem Stallmist in Berührung, in dem die Energie noch nicht bis auf ein Minimum zerstört ist, so wird sie Mangel an verwertbaren Stickstoffverbindungen haben, sie leidet Hunger nach Stickstoff. Der Verlust des im Boden lagernden Mistes an Energie, durch Oxydation der Kohlenstoffverbindungen, verläuft nicht völlig gleichzeitig mit der Oxydation der Kohlenstoffverbindungen zu Salpeter. Letztere erfolgt langsamer und währt auch dann noch fort, wenn die Kohlenstoffverbindungen ihre für die Bakterien verfügbare Energie verloren haben. Pflügt man den mäßig verrotteten Mist unter, und läßt ihn längere Zeit im Boden liegen, bevor die Bestellung ausgeführt wird, so werden die jungen Pflanzen einen größeren Vorrat an aufnehmbaren Stickstoffverbindungen vorfinden. Wir glauben daher auf Grund unserer bakteriologischen Ergebnisse das frühzeitige Unterpflügen von hinreichend verrottetem Stallmist empfehlen zu dürfen, eine Annahme, die mit den Erfahrungen der Praktiker übereinstimmt. Auch M. Maercker hebt hervor, daß es zweckmäßig ist, die Bestellung nicht sogleich nach dem Unterpflügen folgen zu lassen, giebt jedoch hierfür einen anderen Grund an<sup>1)</sup>.

### V. Steigerung der Stallmistgaben.

Mit einer Steigerung der Stallmistgaben wird die Salpetergärung vermehrt, so daß z. B. die doppelte Menge Dünger auch die doppelte Menge Salpeter zu zersetzen vermag (Schneidewind, Jahrb. d. Vers.-Stat. Halle, 1896. p. 68 und Journ. f. Landw. XLV. Bd. p. 188). Diesem Ausspruche muß ich unter Hinweis auf die vorher unter 7

1) l. c. 1896. p. 56.



erwähnten Gründe vollkommen beipflichten. Die Ursache liegt indes nur darin, daß größere Mengen von Dünger den Bakterien ein größeres Quantum an Energie zu liefern vermögen, als eine kleine Menge Dünger von gleicher Beschaffenheit. Die Ursache ist nicht, die Maercker und Schneidewind annehmen, durch die Zahl der Bakterien begründet.

VI. Die Wirkung von Mist auf den im Boden vorhandenen oder als Dünger gegebenen Salpeter.

Von Maercker ist wiederholt nachgewiesen, daß nach einer Düngung mit Kuh- oder Pferdekot eine geringere Stickstoffwirkung hervortrat, als auf den nicht mit Stickstoff gedüngten Parzellen und wird in zutreffender Weise der negative Erfolg dadurch erklärt, daß die Salpeter-zerstörenden Bakterien den natürlichen Vorrat des Bodens an Salpeter zum Teil vernichten. Gleiche Mißerfolge konnten hin und wieder beobachtet werden, wenn zum Mist eine Beidüngung von Salpeter gegeben war. Zur Erklärung der Ursache füge ich hinzu, daß die Höhe der Zersetzung des Salpeters von der Menge der im Kot oder Mist den Organismen zur Verfügung stehenden Energie abhängt. Wir müssen dafür sorgen, diese Energie vor dem Gebrauch des Düngers so weit als möglich zu vermindern, wenn der Nutzerfolg der Düngung gesteigert werden soll.

VII. Die Wirkung von Stroh.

M. Maercker machte bei Vegetationsversuchen die Beobachtung, daß Stroh verheerend auf die Stickstoffverbindungen des Bodens einwirkt, sowohl für sich allein, als auch im Gemisch mit Kot und Harn. Je mehr Stroh gegeben wurde, um so mangelhafter war die Wirkung. Das Stroh setzte seine verheerende Wirkung auch bei der Nachfrucht fort<sup>1)</sup>.

Wir haben hier wieder das Beispiel von der Wirkung der im Stroh aufgespeicherten Energie, welche von den Bakterien zur Vernichtung des Salpeters verwendet wird. Je mehr Stroh gegeben wurde, desto mehr Energie stand den Organismen zur Verfügung.

VIII. Vergleich zwischen der Wirkung von Stroh und von Stallmist auf die Zerstörung des Salpeters.

Nach Beobachtungen von Schneidewind bewirkt eine Düngung von 100 g Stroh größere Salpeterverluste, als eine solche von 100 g Mist<sup>2)</sup>. Schneidewind erklärt dies dadurch, daß 100 g Stroh mehr Trockensubstanz als 100 g Mist enthalten und mit der Erhöhung der Trockensubstanz die Zahl der Keime von Salpeter-zerstörenden Organismen wächst. Diese Annahme dürfte nicht zutreffend sein. Die stärkere Wirkung des Strohes beruht darauf, daß durch dasselbe dem Boden eine größere Menge von Energie zugeführt wird, welche von den betreffenden Organismen verwertet werden kann.

IX. Pferdekot, Kuhkot, Schafkot.

Die Ergebnisse der verschiedensten Forscher stimmen darin überein, daß Pferdekot den Salpeter am schnellsten zersetzt, geringer

1) M. Maercker, l. c. 1895. p. 73.

2) l. c. 1896. p. 72.

wirkt Kuhkot und noch geringer Schafkot. Wir haben bisher nur mit den beiden ersten Kotsorten Versuche gemacht und den Nachweis geliefert, daß der Pferdekot eine größere Menge von Energieerzeugern enthält als der Kuhkot und hierauf der Unterschied in der Stickstoffwirkung beider Kotsorten beruht. Es ist anzunehmen, daß der Schafkot noch ärmer an solchen Energieerzeugern ist, auch findet diese Annahme eine Erklärung durch die Thatsache, daß das Schaf die Futterstoffe, und insbesondere die stickstofffreien Extraktstoffe, besser ausnutzt als das Pferd. Daher muß der Schafkot ärmer an disponibler Energie sein.

#### X. Gemische von Ackererde mit Salpeter.

In einem Gemische von humushaltiger Acker- oder Gartenerde beobachtete P. Wagner keine Salpetergärung<sup>1)</sup>. 4000 g Gartenerde konnten 2 g Salpeterstickstoff nach einer Versuchsdauer von 400 Tagen nicht in den freien Zustand überführen.

Diese vorteilhafte Eigenschaft der Erde ist nach meiner Ueberzeugung darauf zurückzuführen, daß die Erde Mangel an Energie erzeugenden Kohlenstoffverbindungen hat. Der kohlenstoffhaltige Humus des Bodens ist nicht fähig, den salpeterstörenden Bakterien die nötige Energie zu liefern.

#### XI. Gemisch von Stroh mit Salpeter und Mischungen von Stroh mit Erde und Salpeter.

Nach Beobachtungen von P. Wagner vermag das Roggenstroh, bezw. die darauf wachsenden Organismen, der Salpeter zu vergären, wenn auch langsam. Stroh im Gemenge mit Erde vergärt den Salpeter bedeutend schneller, als wenn man nur Stroh oder nur Erde verwendet.

Für diese Thatsache kann eine sehr einfache Erklärung gefunden werden.

Die Erde ist arm an energieliefernden Kohlenstoffverbindungen. Das Stroh enthält solche Substanzen, aber in einem nicht direkt von den salpeterzerstörenden Organismen verwertbaren Zustande. Bringt man relativ wenig Stroh mit viel Erde zusammen, so zersetzen die in der Erde vorhandenen Fäulnisbakterien die im Stroh enthaltenen C-Verbindungen soweit, daß sie nun als Energiequelle für die Salpeterzerstörer dienen können (s. 3).

#### XII. Sterilisierter und mit antiseptischen Mitteln versetzter Mist.

M. Maercker geht von der nach meiner Ansicht nicht zutreffenden Meinung aus, daß die Intensität der Salpeterzersetzenden Wirkung eines Mistes bezw. Strohes, wesentlich durch die Zahl der betreffenden Organismen beeinflusst wird, und führte Maercker, um eine Stütze für diese Annahme zu finden, Vegetationsversuche mit besonders zubereitetem Stroh und Pferdekot aus. Der Kot war durch wiederholtes Erhitzen auf 120° völlig keimfrei gemacht, und das Stroh zuvor mit verschiedenen antiseptischen Mitteln (Schwefelsäure, Xanthogenat, Flußsäure) behandelt<sup>2)</sup>. Wider Erwarten erwies diese Behandlungsweise sich völlig wirkungslos, im Gegenteil war durch das Erhitzen

1) P. Wagner, Landw. Vers.-Stat. Bd. XLVIII, p. 338.

2) l. c. 1896. S. 44 u. 65.

des Pferdekotes dessen salpeterzerstörende Eigenschaft verstärkt. Maercker meint, daß beim Sterilisieren schädliche organische Substanzen gebildet seien, welche als Pflanzengifte wirkten. Nach meiner Ansicht läßt eine ganz ungezwungene Erklärung sich dadurch finden, daß durch die Zugabe antiseptischer Mittel zum Stroh dessen Energiemenge unverändert blieb, während beim Dämpfen des Pferdekotes gewisse Kohlenstoffverbindungen leichter assimilierbar gemacht sind. Im letzteren Falle wurde die Energie vermehrt und mußte daher eine energischere Salpeter zerstörende Wirkung eintreten.

Aus Vorstehendem dürfte hervorgehen, daß die Stickstoffwirkung des Stalldüngers ganz wesentlich von den gleichzeitig darin enthaltenen Kohlenstoffverbindungen abhängt. Der praktische Nutzertrag der Düngung wird ein höherer sein, wenn eine nur geringe Menge solcher Kohlenstoffverbindungen zugegen ist, welche den denitrifizierenden Bakterien die nötige Energie zur Spaltung der Salpetermoleküle liefert. Das Bestreben des Landwirts muß darauf gerichtet sein, den Dünger so zu präparieren, daß die kohlenstoffhaltigen Materialien den betreffenden Bakterien eine nur geringe Menge von chemischer Spannkraft zu liefern vermögen. Um dieses Ziel zu erreichen, dürfte, außer anderen Maßnahmen, die reichliche Anwendung der „energielosen“ Torfstreu, als Einstreumaterial in die Ställe, besonders zu empfehlen sein. Es ist dies eine Frage, die eine weitere gründliche Bearbeitung, auch in bakteriologischer Hinsicht, erfordert, da durch die unzumutbare Behandlung des Stalldüngers in Deutschland jährlich viele Millionen für das Nationalvermögen verloren gehen.

*Nachdruck verboten.*

## Die im Mistе vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserlich-russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

### Dritte Mitteilung.

Von

S. A. Sewerin.

Mit 2 Figuren.

(Schluß.)

Was die von einigen Forschern angeführte Beobachtung betrifft, daß die Enden der Fäden bei Streptothrixarten, die Ketten von Sporen bilden, bedeutend dicker als der übrige Teil des Fadens seien, so kann ich dieses in betreff der von mir beobachteten Art nicht bestätigen. Infolge des verschiedenen Lichtbrechungskoeffizienten scheinen sie in der That etwas dicker zu sein, aber die direkte Messung ergibt es nicht, und wenn sie in der That existiert, so

doch nur in äußerst geringem Maße. Zuweilen finden sich in der That in alten hängenden Tropfen derartige Fadenenden vor, die durch ihre bedeutendere Dicke wirklich in die Augen fallen, aber sie sind äußerst selten, und in gefärbten Präparaten erscheint der übrige Teil des Fadens kaum gefärbt und hat den Anschein, als ob er seines Inhaltes beraubt wäre.

Strich auf Kartoffel nach 2 Tagen bei 30° C. Schmalflach, körnig, sehr zähe (wie hornartig), trocken, kaum gelblich gefärbt oder von der Farbe des Kartoffelschnittes. Am 3. Tage erscheint eine reichliche Sporenbildung in Form eines schneeweißen, später grauweißen Anfluges. Nach 2 Wochen ungefähr wird die Kartoffel längs den Rändern des Striches tiefschwarz wie mit einem Trauerrande umgeben, im weiteren Verlauf beginnt die Kartoffel an der ganzen Oberfläche dunkler zu werden, und färbt sich dunkelkaffeebraun. Der Strich selbst bleibt dem äußeren Ansehen nach unverändert, er wird aber allmählich flacher und flacher, infolgedessen daß er in die Kartoffelmasse allmählich hineinwächst, und sinkt schließlich vollständig in dieselbe hinein, wobei seine Oberfläche mit der Oberfläche des Kartoffelschnittes gleich wird. Zuweilen (wahrscheinlich in Abhängigkeit von der Kartoffelsorte) wird die Kartoffel nicht schwarz, sondern bewahrt ihre ursprüngliche Farbe, längs den Rändern des Striches bildet sich eine hellgelbe Einkantung; aber nichtsdestoweniger nach 2—3 Monaten, wenn die Kultur über die ganze Oberfläche der Kartoffel sich verbreitet hat, bekommt die letztere ebenfalls kaffeebraune Farbe; zuweilen kommt es auch vor, daß sogar die äußere Form des Striches sich stark verändert und anstatt der gewöhnlichen Grobkörnigkeit bedeckt sich derselbe mit kleinen Ringeln und bekommt eine lockige Form. Ueberhaupt verliert der Strich, am Anfang körnig und sehr zähe, nach einiger Zeit seine Zähigkeit, und, obgleich die Oberfläche noch ziemlich lange ihre Zähigkeit behält, in dem Maße, daß sie schwierig mit der Platinnadel zu durchdringen ist, unter der zähen Oberfläche besteht der Strich aus einer mürben Masse. Beim Beobachten des schneeweißen Anfluges unter dem Mikroskop erhält man ein sehr mannigfaltiges Bild: Längliche Sporen in allen möglichen Vereinigungen, einschließlich bis zu langen, geraden oder gebogenen Ketten, zuweilen treffen sich Ketten mit einem rosenkranzartigen Seitenzweige, ferner Stäbchen verschiedener Länge (lange Fäden beobachtet man übrigens nicht), ebenfalls verschiedenartig gebogen, häufig verzweigt, aber gewöhnlich mit nicht mehr als einem Zweige. Mit einem Wort, man hat das Bild eines vollständigen Verfalles der ursprünglichen Fäden.

Beim Impfen der Sporenkultur auf Mist erscheint nach 2—3 Tagen bei 30° C ein schneeweißer Anflug; an dieser Stelle klebt sich der Mist zu einer festen, zusammenhängenden Rinde zusammen. Unter dem Mikroskop erhält man dasselbe Bild wie von der Kartoffel.

Beim Impfen in Milch verwandelt sich die letztere nach einer Woche, bei 30° C, in eine dickliche, körnige Masse, an der Oberfläche bildet sich eine kleine Schicht trüber Wolken; die Reaktion der Milch ist schwach sauer, der Geruch leicht käseartig.

In anaërober Bouillon wächst er nicht.

In Bouillon mit  $\text{NaNO}_3$  erleidet das letztere keine Reduktion.

Alle Kulturen verbreiten einen starken schimmelartigen Geruch.

Beim Einführen in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens wurde kein Effekt erzielt.

Beim Vergleich des beschriebenen *Streptothrix* mit früher untersuchten Arten kommt er der Art *Oospora Guignardi* (Sauvageau et Radais) am nächsten<sup>1)</sup>.

Im Folgenden will ich zur Beschreibung der anaëroben Arten übergehen<sup>2)</sup>:

#### No. 2.

Form der Kolonien auf Agar in Vignat'schen Röhrchen nach 24 Stunden bei 30° C rund, der mittlere Teil in Form eines dunkelbraunen Flecks, von welchem eine Menge sehr zarter, untereinander verwickelter Fäden ausgeht. Makroskopisch runde, grauweiße, wollige Massen, in Form von Mooshäufchen. Bildung von Gasbläschen findet nicht statt, jedoch erscheinen in äußerst seltenen Fällen einige Gasbläschen. Beim Öffnen der Röhrchen tritt ein widerlicher Fäulnisgeruch auf.

Form der Kolonien auf Gelatine in Vignat'schen Röhrchen bei gewöhnlicher Temperatur. Die Kolonien erscheinen nach 3 Tagen und haben die Form eines sehr zarten Wölkchens, aber am nächsten Tage ist der ganze Inhalt des Röhrchens schon trübe, nach 5—6 Tagen die Gelatine verflüssigt; Gasbildung unbedeutend.

Stich in Gelatine bei gewöhnlicher Temperatur. Nach 3 Tagen bildet sich unter der Einstichstelle ein ziemlich großes Wölkchen, aus einem Geflecht von äußerst zarten Fäden bestehend, am 4. Tage nimmt das Wölkchen die ganze obere Hälfte des Röhrchens ein; am 5. Tage geht die Trübung noch tiefer herab und es beginnt die Verflüssigung der äußersten Schicht der Gelatine, wobei die ganze Oberfläche gleichzeitig flüssig wird; nach 6 Tagen ist die obere Schicht der Gelatine verflüssigt, die flüssige Gelatine ist trübe, das Wölkchen sinkt bis zum Boden des Röhrchens; nach 9 Tagen ist mehr als die Hälfte der Gelatine verflüssigt, am Grunde der verflüssigten Gelatine befindet sich ein reichlicher, weißer, flockiger Niederschlag, der oberste Teil der Gelatine beginnt sich zu klären; nach 15 Tagen ist die ganze Gelatine verflüssigt und klar geworden, am Boden befindet sich ein reichlicher, flockiger Niederschlag. Gasblasen werden nicht gebildet.

Impfung in Bouillon bei 30° C. Wie mehrere Impfungen zeigten, beginnt die Trübung der Bouillon erst nach 3 Tagen, wobei die Bouillon stark trübe wird, am Boden sammelt sich ein unbedeutender Niederschlag, im weiteren Verlauf wird der Niederschlag reichlicher. Nach 10 Tagen ist die Bouillon klar, beim Schütteln des Probierröhrchens erhebt sich der Niederschlag vom Boden in Form eines zähen

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1892. p. 242.

2) In meiner letzten Mitteilung über die im Miste vorkommenden Bakterien ist schon eine anäerobe Art beschrieben worden, aus welchem Grunde ich die hier zu beschreibenden zwei Arten mit No. 2 und 3 bezeichnen will. Alle Kulturen wurden, nachdem die Luft ausgepumpt worden war, in einer H-Atmosphäre gezüchtet.

Bandes, welches sich nur schwierig in der Flüssigkeit zerteilt. Bildung von Gasblasen findet nicht statt, beim Öffnen des Röhrchens verbreitet sich ein widerwärtiger Fäulnisgeruch. Unter dem Mikroskop besteht die Kultur aus ziemlich dicken Stäbchen, aus Gliederchen in verschiedener Anzahl zusammengestellt, zuweilen bis zur Bildung von langen Fäden; fast alle Stäbchen sind gekrümmt, besonders häufig tritt eine knieförmige Biegung an den Stellen auf, an welchen eine arthrospore Teilung stattfindet. Die Länge der Gliederchen ist  $2-8\ \mu$ , die Breite  $0,7-0,8\ \mu$ . Der Mikroorganismus besitzt keine aktive Bewegung, färbt sich sehr ungleichmäßig; infolgedessen erscheinen die Stäbchen zuweilen wie mißgestaltet, mit abgenagten Enden u. s. w.; an lebenden Präparaten ist das letztere nicht zu bemerken. Sporenbildung tritt spät ein, erst nach 8–10 Tagen; die ovalen Sporen befinden sich ganz am Ende der Stäbchen; der Querdurchmesser derselben ist ein wenig breiter als die Breite des Stäbchens selbst, während vollständig entwickelte Sporen bedeutend breiter sind, bis zu 2mal breiter als die Stäbchen. Stäbchen mit derartigen Sporen sind kürzer als die Mehrzahl der Stäbchen, die keine Sporen tragen, ihre Länge geht nicht über  $2-3\ \mu$  hinaus. Außerdem sind dieselben auch noch dünner. Im allgemeinen kommen die Stäbchen während der Sporenbildung dem Tetanus äußerst nahe. Die Reaktion der Bouillon ist alkalisch.

Impfung in Milch bei  $30^{\circ}\text{C}$ . Nach 3 Tagen gerinnt die Milch in eine halbdicke Masse; nach 6 Tagen befindet sich auf der Oberfläche eine klare Schicht Molken, das übrige ist ein dickes Gerinnsel; Gasentwicklung wird nicht beobachtet. Beim Öffnen der Röhrchen besitzt die Milch einen Fäulnisgeruch, die Reaktion ist schwach alkalisch; unter dem Mikroskop beobachtet man dasselbe Bild wie bei der Bouillon.

Auf Kartoffel gedeiht der Mikroorganismus nicht. In Bouillon mit  $\text{NaNO}_3$  erleidet das letztere keine Reduktion.

Einführen von  $0,5\text{ ccm}$  der Bouillonkultur in das Muskelgewebe von Kaninchen und Meerschweinchen bringt durchaus keine Wirkung hervor. (Zuvor wurde Milchsäure eingespritzt.) Der Mikroorganismus gehört zu strengen Anaëroben.

### No. 3.

Form der Kolonien auf Agar in Vignal'schen Röhrchen nach 24 Stunden bei  $30^{\circ}\text{C}$ . Die Kolonien sind oval, körnig, gelblich-braun; bei vielen Kolonien befindet sich an irgend einer Stelle ein Seitenauswuchs der Kultur in der Form einer unregelmäßigen Masse von gleichem Aussehen, wie die Kolonie selbst. Während der nächsten Tage ändern die Kolonien ihre äußere Gestalt nicht, bloß in der Agarmasse erscheinen viele Gasblasen.

Form der Kolonien auf Gelatine in Vignal'schen Röhrchen bei gewöhnlicher Temperatur. Die Kolonien erscheinen am dritten Tage, sind von verschiedenartiger Rundung, hellgelb-braun, die Oberfläche ist körnig, die Umrisse glatt, nach 4–8 Tagen erscheinen in der Gelatine Gasblasen; die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Beim Oeffnen der Vignal'schen Röhrchen beobachtet man einen starken Gasdruck, aber keinen Geruch.

Stich in Gelatine bei gewöhnlicher Temperatur. Erscheint nach 3—4 Tagen, dünn, weiß, undurchsichtig, feinkörnig, denselben Charakter behält er auch noch während der folgenden Tage bei, bloß daß er reichlicher wird. In der Gelatinemasse geht eine energische Gasbildung vor sich; die Gelatine wird zuweilen durch die Gase nach mehreren Richtungen in vollständige Schichten getrennt.

Impfung in Bouillon bei 30° C giebt schon nach 24 Stunden eine starke Trübung mit merklicher Schaumbildung auf der Oberfläche. Am zweiten oder dritten Tage wird die Bouillon heller, und am Boden bildet sich ein geringer, zäher Niederschlag. Beim Oeffnen des Röhrchens beobachtet man einen starken Gasdruck. Unter dem Mikroskop sieht man dünne, vollständig gerade, elegante Stäbchen von verschiedener Länge, wobei aber sehr kurze Stäbchen und lange Fäden nicht gebildet werden. Bei vielen der Stäbchen beobachtet man an einem Ende eine geringe Anschwellung (Eintritt der Sporenbildung). In 5-tägiger Bouillon verwandeln sich diese geringen Anschwellungen in sehr große, ovale Sporen, mit einem 2—2,5mal größeren Durchmesser, als die Breite des Stäbchens beträgt. Die Länge der Stäbchen ohne Sporen beträgt 2—4  $\mu$ , die Breite 0,5  $\mu$ ; dort aber, wo Sporen existieren, ist das Stäbchen beständig länger als 6—8  $\mu$ , infolgedessen dasselbe Stecknadelform erhält. Arthrospore Teilung läßt sich nur selten bei den kürzeren Stäbchen beobachten. Aktive Bewegung wurde nicht konstatiert, die Stäbchen färben sich gleichmäßig, die Reaktion der Bouillon ist deutlich sauer.

In Bouillon mit  $\text{NaNO}_3$  erleidet das letztere keine Veränderung.

Impfung in Milch bei 30° C. Nach 2—3 Tagen beobachtet man eine reichliche Gasentwicklung. Die Milch wird nicht zum Gerinnen gebracht, obgleich die Reaktion derselben nach Verlauf von 10 Tagen deutlich sauer ist. Beim Oeffnen des Röhrchens starker Gasdruck. Unter dem Mikroskop dasselbe Bild, wie in der Bouillon, bloß daß nach Verlauf von 10 Tagen keine Sporenbildung vor sich geht.

Auf Kartoffel wächst der Mikroorganismus nicht.

Beim Einspritzen von 0,5 ccm der Bouillonkultur in das Muskelgewebe von Kaninchen und Meerschweinchen erhält man keine Wirkung.

Beim Oeffnen aller Kulturen wird gar kein Geruch bemerkt.

Der Mikroorganismus gehört zur Gruppe der strengen Anaëroben.

Aus der angeführten Beschreibung der anaëroben Arten ist es nicht schwer, eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Tetanusk Mikroorganismus zu ersehen, besonders deutlich ist diese Aehnlichkeit bei der Art No. 2: Wuchs der Kolonien, Stich in Gelatine und Stecknadelform der Stäbchen während der Sporenbildung machen diese Aehnlichkeit äußerst täuschend. Bei No. 3 dagegen sind die äußeren Anzeichen ganz andere, aber die Form der Stäbchen nähert sich in gewissem Grade dem Tetanus. Wenn man der Klassifikation nach Flügge folgen will, so müssen beide beschriebene Arten von Mikroorganismen in die Tetanusgruppe gestellt werden. Es muß noch auf die Art

No. 3 in der Hinsicht aufmerksam gemacht werden, daß dieselbe sehr energisch organische Stoffe zerstört. Nach der reichlichen Menge Gas, welche derselbe in einem jeden Nährsubstrat entwickelt, kann man voraussetzen, daß hauptsächlich diese Art es ist, die in der untersuchten Portion Mist die brennbaren Gase produzierte.

Wie schon früher bemerkt, wurden im ganzen bei dieser, vierten an der Zahl, bakteriologischen Analyse von Pferdmist sieben Reinkulturen isoliert, von welchen bloß eine Art auch schon bei den früheren Analysen vorkommt. Auf diese Art beträgt gegenwärtig meine Sammlung von Repräsentanten der bakteriellen Bevölkerung des Pferdemistes zusammen mit den schon isolierten 26 Arten im ganzen 32 Reinkulturen.

Ich will nun zur Beschreibung der Versuche, die physiologische Seite der Frage betreffend, übergehen. Die Technik der ausgeführten Versuche war die frühere, dieselben Bedingungen und derselbe Apparat, wie sie schon in meinen früheren zwei Artikeln beschrieben wurden.

In der ersten Tabelle werden die Resultate von drei Versuchen aufgeführt, unternommen wie immer, im Dünger von ein und derselben Zusammensetzung, d. h. aus 150 g frischen Pferdekotes, 15 g Stroh, 60 ccm frischen Pferdeharnes und 50 ccm Wasser bestehend. Die Temperatur war 30—35° C. Die Beschreibung der Kulturen, welche an den Versuchen teilnahmen, will ich hier nicht anführen, und ich habe bloß zu bemerken, daß beim ersten Versuche die Reinkultur eines Mikroorganismus von Kokkenform zugeimpft wurde, welcher die Gelatine nicht verflüssigte und sich überhaupt nicht durch irgendwelche auffallenden Eigenschaften auszeichnete. Diesen Mikroorganismus will ich in der Reihenfolge der schon früher beschriebenen Versuche mit No. 7 bezeichnen. Am zweiten Versuche nahm die Kultur des allgemein bekannten *B. pyocyaneus* teil. Im dritten Versuche vegetierte ein Mikroorganismus von Kokkenform, welcher sehr langsam die Gelatine verflüssigte; denselben will ich mit No. 8 bezeichnen. Der erste Versuch dauerte 35 Tage, der zweite 65 Tage, der dritte 25 Tage. Die Resultate der Versuche waren folgende (s. Tab. I. p. 712):

Bei der Betrachtung der Versuche 1 und 3 sieht man, daß die an denselben teilnehmenden Mikroorganismen 7 und 8 bei der Oxydation der organischen Stoffe des Mistes eine höchst unbedeutende Rolle spielen; No. 8 äußert sogar überhaupt keine Oxydationsthätigkeit, was erstens aus der Menge der ausgeschiedenen  $\text{CO}_2$  zu ersehen ist, welche sich in nichts von ebensolchen Mengen Kohlensäure unterscheidet, die ausgeschieden wird, wenn der Mist sich unter dem Einfluß der Wirkung der Luft allein befindet, ohne Teilnahme der Mikroorganismen, und zweitens daraus, daß die nach Beendigung des Versuches ausgeführte Analyse ergab, daß der betreffende Mikroorganismus sich überhaupt nicht entwickelt hatte, da die ausgeführten Impfproben sich steril erwiesen. Zur Kontrolle wurde dabei beim Versuch No. 3, fünf Tage vor Beendigung des Versuches (am 25. Oktober), zur Düngerprobe von neuem die Kultur No. 8 hinzugegeben, trotz alledem wurde die Menge der sich ausscheidenden  $\text{CO}_2$  in den folgenden 5 Tagen durchaus nicht vermehrt. Dieser Fall beweist endgiltig,



## I.

1. Versuch begonnen am 20. Sept. 1896		2. Versuch, begonnen am 4. Nov. 1896		3. Versuch, begonnen am 5. Okt. 1896	
Zeit der Wägungen	Zu- wachs von CO <sub>2</sub> in g	Zeit der Wägungen	Zu- wachs von CO <sub>2</sub> in g	Zeit der Wägungen	Zu- wachs von CO <sub>2</sub> in g
25. September	0,1654	9. November	1,6406	10. Oktober	0,0794
30. "	0,1176	14. "	1,8086	15. "	0,0450
5. Oktober	0,0418	19. "	1,4344	20. "	0,0434
10. "	0,1258	24. "	1,0592	25. "	0,0440
15. "	0,0994	29. "	0,5838	30. "	0,0490
20. "	0,0964	4. Dezember	0,5170	Im ganzen während 25 Tagen	0,2608
25. "	0,0886	Im ganzen während 30 Tagen	7,0386	Menge des ausgeschie- denen NH <sub>3</sub> in g	0
Im ganzen während 35 Tagen	0,7350	9. Dezember	0,8466		
Menge des ausgeschie- denen NH <sub>3</sub> in g	0	14. "	0,2424		
		19. "	0,1238		
		24. "	0,1022		
		29. "	0,1510		
		3. Januar	0,1782		
		8. "	0,1132		
		Im ganzen während 35 Tagen	1,2574		
		Menge des ausgeschie- denen NH <sub>3</sub> in g während 65 Tagen	0,0245		

daß der Mikroorganismus No. 8 im Miste nicht vegetierte. Die Mistprobe blieb bei diesem Versuche dem Aussehen nach unverändert, war aber merklich eingetrocknet. Beim Versuch No. 1 entwickelt sich die Kultur No. 7 unzweifelhaft, was schon aus den Quantitäten der ausgeschiedenen CO<sub>2</sub> ersichtlich ist, außerdem zeigte eine nach Beendigung des Versuches ausgeführte Analyse auf Platten die Entwicklung einer sehr großen Anzahl von Kolonien dieses Mikroorganismus. Trotz alledem ist seine Oxydationsenergie verhältnismäßig schwach, da während der 35-tägigen Dauer des Versuches im ganzen bloß 0,7350 g CO<sub>2</sub> ausgeschieden wurden. Fünf Tage vor Beendigung des Versuches (am 20. Oktober) wurde die Temperatur, bei welcher der Versuch geführt wurde, bis auf Zimmertemperatur erniedrigt, in der Voraussetzung, daß eine Temperatur von 30—35° C möglicherweise auf die Lebensthätigkeit des betreffenden Mikroorganismus einen ungünstigen Einfluß ausüben könnte, jedoch der Zuwachs der sich bildenden CO<sub>2</sub> bei der folgenden Wägung hatte sich nicht im geringsten verändert, und folglich hatte die Temperatur in diesem Falle keine Bedeutung. Nach Beendigung des Versuches hatte die Mistprobe ihr Ansehen nicht verändert, war aber merklich eingetrocknet. Ammoniak wurde weder in dem einen, noch im anderen Falle ausgeschieden. Was nun den Versuch No. 2 betrifft, bei welchem *B. pyocyaneus* zur Thätigkeit gelangte, so sehen wir hier, ganz im Gegenteil, eine sehr energische CO<sub>2</sub>-Entwicklung: während der ersten 30 Tage wurden 7,0386 g CO<sub>2</sub> ausgeschieden, während der folgenden 35 Tage noch 1,2574 g. Aus allen von mir bis jetzt in

dieser Beziehung untersuchten Kulturen produziert der *B. pyocyaneus* am meistens  $\text{CO}_2$ ; außer  $\text{CO}_2$  tritt als Resultat seiner Lebensthätigkeit noch die Entwicklung von  $\text{NH}_3$  auf, welcher im Laufe des Versuches in einer Menge von 0,0245 g ausgeschieden wurde und welcher am allerwahrscheinlichsten auf Kosten des Harns entstand. Auf diese Art erweist es sich, daß *B. pyocyaneus*, außer seiner denitrifizierenden Thätigkeit, worauf ich schon in meiner Arbeit: „Zur Frage über die Denitrifikation“, hingewiesen habe, noch mit der Fähigkeit begabt erscheint, ammoniakalische Gärung des Harns hervorzurufen. Nach Beendigung des Versuches mit *B. pyocyaneus* war der Mist feucht, stellenweise (in einzelnen Klümpchen) sichtbar gedunkelt und verbreitete einen scharfen Düngergeruch; die Reaktion des Düngers war deutlich alkalisch. Das Wunderbarste aber sind die Resultate einer bakteriologischen Analyse nach Beendigung des Versuches; es erwies sich nämlich dabei, daß der Mikroorganismus zu Grunde gegangen war; es wurde nicht nur auf Platten keine einzige Kolonie erhalten, sondern auch Bouillon, welcher ein Stückchen des Mistes hinzugegeben worden war, blieb klar. Wie man sieht, so wurden im Laufe einer so kurzen Zeit als zwei Monate, während welcher der Versuch dauerte, als Resultat der energischen Lebensthätigkeit des Mikroorganismus solche Bedingungen erhalten, welche denselben zu Grunde richteten.

Beim Nebeneinanderstellen der Mengen von  $\text{CO}_2$ , die bei den Versuchen 1 und 2 während der ersten Monate ausgeschieden wurde, sieht man, daß der Unterschied in der Kohlensäureproduktion zwischen den zwei daran teilnehmenden Organismen noch größer ist, als bei den früheren Versuchen gezeigt wurde, wo sie sich im Verhältnis von 1:4 darstellte, während das Verhältnis jetzt annähernd wie 1:9 ist. Das Nebeneinanderstellen der ausgeschiedenen  $\text{CO}_2$ -Mengen, welche als Resultate der Lebensthätigkeit von Kokken- und Bacillenformen im Mist erscheint, weist überhaupt darauf hin, daß die Kokkenformen eine sehr geringe Teilnahme bei der Zerstörung der organischen Stoffe im Mist erkennen lassen. Unter den bis jetzt in dieser Beziehung untersuchten 7 Kulturen waren drei Kokkenformen und alle drei produzierten, im Gegensatz zu den bacillenförmigen Arten, sehr geringe Mengen von  $\text{CO}_2$ ; No. 8 entwickelte sich sogar überhaupt nicht.

In den folgenden Tabellen II und III werden 5 Versuche unter den No. 4—8 angeführt; die Bedingungen der Versuche blieben dieselben wie früher, bloß mit dem Unterschiede, daß bei den letzteren der Mist keinen Harn enthielt; anstatt der 50 ccm Harn der früheren Versuche wurden zum Mist 40 ccm Wasser gegeben. Diese Versuche wurden zu dem Zwecke unternommen, um durch Vergleich mit den Resultaten der früheren Versuche, bei welchen Harn als einer der Bestandteile gegenwärtig war, zu erfahren, welcher Bestandteil des Düngers unter dem Einfluß der an der Zersetzung teilnehmenden Mikroorganismen zersetzt wird, der Kot oder der Harn. Das Stroh will ich hierbei beiseite lassen, da bei diesen Versuchen dasselbe von seiten der Kulturen keinem Einfluß unterworfen wird. Im 4. Versuche nahm der Mikroorganismus No. 1 teil, im 5. Ver-

suche die Mikroorganismen No. 1 und 3 zusammen, im 6. Versuche No. 3 (*Vibrio denitrificans*), im 7. Versuche No. 2, im 8. Versuche *B. pyocyaneus*. Der 4. Versuch dauerte 30 Tage, der 5. 41 Tage, der 6. 30 Tage, der 7. 20 Tage und der 8. 30 Tage. Die Resultate der Versuche waren folgende.

## II.

4. Versuch, begonnen am 4. Jan. 1897.		5. Versuch, begonnen am 11. Apr. 1896.		6. Versuch, begonnen am 7. Dez. 1896.	
Zeit der Wägungen	Zu- wachs von CO <sub>2</sub> in g	Zeit der Wägungen	Zu- wachs von CO <sub>2</sub> in g	Zeit der Wägungen	Zu- wachs von CO <sub>2</sub> in g
4. Februar	0,1242	16. April	0,2440	12. Dezember	0,0538
9. "	1,5052	21. "	2,0696	17. "	0,6098
14. "	2,0936	26. "	1,3936	22. "	1,0710
19. "	0,8096	1. Mai	0,5662	27. "	0,3646
24. "	0,4164	7. "	0,8334	1. Januar	0,2408
1. März	0,2634	12. "	0,4718	6. "	0,2496
Im ganzen in 30 Tagen	5,2124	17. "	0,3462	Im ganzen in 30 Tagen	2,5896
Menge des ausgeschie- denen NH <sub>3</sub> in g	0	Im ganzen in 41 Tagen	6,2102	Menge des ausgeschie- denen NH <sub>3</sub> in g	0
		Menge des ausgeschie- denen NH <sub>3</sub> in g	0		

## III.

7. Versuch, begonnen am 14. Nov. 1896		8. Versuch, begonnen am 7. März 1897.	
Zeit der Wägungen	Zu- wachs von CO <sub>2</sub> in g	Zeit der Wägungen	Zu- wachs von CO <sub>2</sub> in g
19. November	0,0574	12. März	0,1632
24. "	0,0203	17. "	0,0322
29. "	0,0202	22. "	0,0450
4. Dezember	0,0228	27. "	0,0528
Im ganzen in 20 Tagen	0,1207	1. April	0,2546
Menge des ausgeschie- denen NH <sub>3</sub> in g	0	6. "	1,9960
		Im ganzen in 30 Tagen	2,5438
		Menge des ausgeschie- denen NH <sub>3</sub> in g	0

Nach Beendigung des 4., 5. und 6. Versuches hatten sich die entsprechenden Düngerportionen wenig verändert, sie waren ein wenig gedunkelt, hatten ein wenig an Feuchtigkeit eingebüßt, verbreiteten einen schwachen Düngergeruch und zeigten eine schwach alkalische Reaktion. Die bakteriologische Prüfung bestätigte im 4. und 6. Versuche das Vorhandensein der beigeimpften reinen Kulturen, im 5. Versuche fanden sich beide Kulturen zusammen. Die Zahlen der angeführten Versuche zeigen, daß beide genannten Mikroorganismen,

sowohl No. 1, als auch No. 3 imstande sind, die organischen Stoffe des festen Bestandteils im Dünger, des Kotes, zu zerstören. Beim Vergleich der Resultate dieser Versuche mit den in meiner ersten Arbeit, d. h. unter vollständig analogen Bedingungen, ausgeführten, bloß mit dem Unterschiede, daß dort die Mistportionen Harn beigemischt erhielten, hier aber nicht, läßt es sich mit höchster Wahrscheinlichkeit sagen, daß diese Mikroorganismen bloß den Kot zerstören, indem sie den Harn entweder ganz unberührt lassen, oder bloß in minimalen Mengen zersetzen; hauptsächlich hat dies Bedeutung in betreff des Mikroorganismus No. 1. So entwickelte dieser Mikroorganismus beim früheren Versuche mit Harn während 30 Tage 3,652 g  $\text{CO}_2$ , hier aber, ohne Harn, resultierten 5,2124 g, d. h. um 1,6 g mehr. Dieser Umstand weist sogar darauf hin, daß die Anwesenheit von Harn die Lebensthätigkeit des Mikroorganismus in gewissem Grade paralyisiert, wenn man diesen bedeutenden Unterschied in der Menge der ausgeschiedenen  $\text{CO}_2$  nicht auf Rechnung der bedeutenden Ungleichheit in der chemischen Zusammensetzung der früheren und jetzigen Portionen Kot stellt. In betreff des Mikroorganismus No. 3 zeigen die Zahlen dagegen das umgekehrte Verhältnis; beim Versuche mit Harn wurden während 30 Tagen 3,873 g  $\text{CO}_2$  isoliert, während beim Versuche ohne Harn in denselben 30 Tagen bloß 2,5896 g erhalten wurden, d. h. um 1,3 g weniger; in diesem Falle wirkte die Abwesenheit des Harns schwächend auf die Produktion der  $\text{CO}_2$ . Dieser Umstand läßt sich nicht dadurch erklären, daß der Unterschied von 1,3 g  $\text{CO}_2$  auf Rechnung des Harns fällt, d. h. daß der Mikroorganismus No. 3 außer dem Kot auch noch den Harn zersetzt. Diese Voraussetzung hat wenig Wahrscheinlichkeit für sich, da in solchem Falle beim Versuche das Auftreten von  $\text{NH}_3$  beobachtet werden müßte, währenddessen, gleichwie bei allen 4 hier angestellten Versuchen,  $\text{NH}_3$  nicht erhalten wurde. Eins von beiden, entweder beeinflußt der Harn irgendwie indirekt die Intensität der oxydierenden Thätigkeit des betreffenden Mikroorganismus, oder der Unterschied muß der Ungleichheit der chemischen Zusammensetzung des Kotes in den vergleichenden Versuchen in Rechnung gestellt werden.

Was nun die Reihenfolge betrifft, mit welcher die oxydierende Thätigkeit der Organismen im Miste ohne Harn zum Vorschein kommt, so ist sie dieselbe, wie in den Versuchen mit Harn, d. h. das Maximum der  $\text{CO}_2$  wird bei der 2.—3. Wägung beobachtet (d. h. nach 10 bis 15 Tagen), indem später die Menge  $\text{CO}_2$  allmählich sinkt. Im 5. Versuche, beim gemeinschaftlichen Vegetieren der Mikroorganismen 1 und 3, war die Menge der ausgeschiedenen  $\text{CO}_2$  größer, wie bei den Versuchen, wo sie einzeln lebten. Mit anderen Worten, ihre Oxydierungsenergieen summierten sich, wobei jedoch diese Summe, d. h. 6,2012 g  $\text{CO}_2$ , bedeutend niedriger ist, als die Summe von  $\text{CO}_2$ , d. h. 7,8020 g, die von den beiden Mikroorganismen, jedoch beim selbständigen Vegetieren derselben, produziert wurde, d. h. beim gemeinschaftlichen Leben im Miste unterdrücken sich dieselben gegenseitig in gewissem Grade, indem einer den anderen hindert, seine Oxydierungsfähigkeit in vollem Maße zur Entfaltung zu bringen. Andererseits ist es nicht unmöglich, daß bei der gemeinschaftlichen

summierten Thätigkeit der Mangel an oxydationsfähigem Material nicht ohne Bedeutung ist. Ein derartiges Verhältnis in den Mengen der sich ausscheidenden  $\text{CO}_2$ , beim gemeinschaftlichen Leben der Mikroorganismen und ihrer Thätigkeit im isolierten Zustande wurde ebenfalls schon bei den ersten Versuchen konstatiert.

Wir gehen jetzt zur Betrachtung der Versuche in der Tabelle No. III über. Im Versuch No. 7 fand überhaupt keine fermentative Bildung von  $\text{CO}_2$  statt — im Laufe von 20 Tagen wurden bloß 0,1207 g, d. h. eine solche Menge  $\text{CO}_2$  ausgeschieden, die augenscheinlich auf Rechnung des Luftsauerstoffs zu bringen ist. Dabei wurde am 29. November im Miste bei diesem Versuche wiederum eine Impfung mit der Kultur No. 2 ausgeführt, wobei jedoch auch die darauf folgende Wägung (am 4. Dezember) keinen mehr oder weniger bemerkenswerten Zuwachs an  $\text{CO}_2$  gab. Nach Beendigung des Versuches hatte sich das äußere Ansehen des Mistes nicht geändert, er war bloß merklich eingetrocknet. Die bakteriologische Prüfung zeigte, daß der Mikroorganismus sich überhaupt nicht entwickelt hatte. — Im Versuche No. 8 fand unter dem Einfluß von *B. pyocyaneus* ebenfalls keine Bildung von Gärungskohlensäure statt. Die Impfungen wurden in folgender Art ausgeführt: Beim Beginn des Versuches am 7. März wurde die erste Impfung gemacht, am 17. März die zweite Impfung mit *B. pyocyaneus*, endlich am 27. März geschah die Impfung der zweiten Kultur, namentlich der Kultur No. 1. Beim Vergleich der angeführten Zahlenreihe sieht man, daß bis zur Impfung der Kultur No. 1 keine fermentativen Prozesse stattfanden, d. h. daß *B. pyocyaneus* keine  $\text{CO}_2$  produzierte; dagegen begann eine reichliche  $\text{CO}_2$ -Entwicklung sofort nach Hinzufügung von Kultur No. 1. Die letztere wurde zu dem Zwecke hinzugegeben, um leicht entstehende Zweifel an der Fähigkeit (infolge irgendwelcher Zufälligkeiten) der betreffenden Mistportion, für die Lebensfähigkeit der Mikroorganismen tauglich zu sein, zu beheben. Nach Beendigung des Versuches hatte sich der Mist wenig geändert, er war bloß ein wenig eingetrocknet. Die bakteriologische Prüfung zeigte die Anwesenheit im Miste sowohl von Kultur No. 1, als auch von *B. pyocyaneus*, und was das Merkwürdigste ist, der letztere war in bedeutend größerer Menge vorhanden als No. 1. Man hätte im Gegenteil voraussetzen können, daß *B. pyocyaneus* überhaupt nicht oder bloß in sehr geringem Maße auf den Platten erscheinen sollte, da er seine Anwesenheit beim Versuche nicht durch Entwicklung von  $\text{CO}_2$  kund gab; in Wirklichkeit kam es jedoch ganz anders. Infolgedessen drängt sich unwillkürlich der Verdacht auf, ob nicht nach der Beigabe von Kultur No. 1 auch *B. pyocyaneus* sich zu entwickeln begann. Mit anderen Worten, indem er sich in ungünstigen Verhältnissen befand und infolgedessen sich nicht entwickeln konnte, wartete er bloß auf die Veränderung dieser Verhältnisse, um seine Lebensthätigkeit von neuem zu beginnen. Eine solche Veränderung brachte nun möglicherweise die Beigabe von Kultur No. 1. Wie schon gesagt wurde, zeigte die bakteriologische Prüfung das Ueberwiegen der Kolonien von *B. pyocyaneus*, was an und für sich als Beweis dienen kann, daß der Mikroorganismus sich entwickelte. Zweitens widerspricht die Menge

der während der zwei letzten Termine ausgeschiedenen  $\text{CO}_2$  zu 0,2546 und 1,9960 g durchaus nicht der angeführten Voraussetzung. Bei ebensolchen Bedingungen (Versuch No. 4) gab Kultur No. 1 sogleich nach der Impfung in zwei Terminen zu 0,1242 und 1,5052 g  $\text{CO}_2$ , d. h. weniger als oben angeführt. Daraus läßt sich folgern, daß die größeren Zahlen augenscheinlich bloß erhalten werden konnten durch die gemeinschaftliche Thätigkeit der Kulturen. Die endgiltige Entscheidung der Frage läßt sich natürlich dadurch noch nicht herbeiführen, dennoch erhält man hiermit noch einen neuen Standpunkt zur Erklärung der wechselseitigen Einwirkung der Kulturen und dementsprechend einen neuen Grund zu einem derartigen Arrangement von Versuchen, welches imstande wäre, diese Wechselwirkung aufzuklären.

Auf jeden Fall zeigen die angeführten Versuche, daß Kultur No. 1 und *B. pyocyaneus* im Mistе ohne Harn nicht vegetieren. Stellen wir nun die Resultate dieser Versuche mit denen zusammen, in welchen die Mistportionen Harn enthielten und in welchen dieselben Mikroorganismen wie in der ersteren thätig waren. Aus meiner früheren Mitteilung sehen wir, daß dort der Mikroorganismus No. 2 im Laufe von 62 Tagen 5,926 g  $\text{CO}_2$  und 0,0365  $\text{NH}_3$  lieferte, aus der Tabelle I in dieser Arbeit sehen wir, daß *B. pyocyaneus* in 65 Tagen 8,2961 g  $\text{CO}_2$  und 0,0245 g  $\text{NH}_3$  gab. Auf diese Art führt eine solche Zusammenstellung auf den Gedanken, daß, da der Mikroorganismus sich nicht im Mistе ohne Beisein von Harn entwickelt, und sich mit bedeutender Energie im Mistе mit Harn gemischt entwickelt, die dabei entstehenden Mengen von  $\text{CO}_2$  und  $\text{NH}_3$  vollständig auf Rechnung des Harns gestellt werden mußten. Eine derartige Schlußfolgerung wird jedenfalls nicht richtig sein. Wenngleich auch  $\text{NH}_3$  aus dem Harn erhalten wird, so ist dies doch nicht der Fall in betreff von  $\text{CO}_2$ , schon aus dem Grunde, weil zur Bildung von so großen Quantitäten  $\text{CO}_2$ , wie 8,2961 g (bei *B. pyocyaneus*) in 50 ccm Pferdeharn nicht genügend C vorhanden ist. Wenn man sogar voraussetzen würde, daß aller C des Harnes zur Bildung von  $\text{CO}_2$  verbraucht würde, so wäre derselbe nach der Berechnung, wenn auch infolge der sehr mangelhaften analytischen Resultaten von Tierharnen sehr ungenau, in 50 ccm Pferdeharn um die Hälfte geringer, als sich in 8 g  $\text{CO}_2$  findet. Außerdem stimmen mit den hier ausgedrückten Voraussetzungen die Zahlenverhältnisse zwischen den Mengen von  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$  nicht überein. Man könnte noch zugeben, daß No. 2 auf Kosten des Harns vegetiert, während dieses in betreff von *B. pyocyaneus* höchst wahrscheinlich ist.

Auf diese Art läßt sich denken, daß die beiden angeführten Mikroorganismen, indem sie im Mistе vegetieren, den Harn zerlegen, zu gleicher Zeit aber auch die organischen Stoffe des Kotes oxydieren. Was nun den Umstand betrifft, daß die beiden Mikroorganismen im Mistе ohne Harn nicht vegetieren und den Kot nicht oxydieren wollen, so weist er darauf hin, daß bei der Gärung des Mistes der Harn nicht nur als Material für die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen der Harngärung dient, sondern auch als Vermittler-Erreger funktioniert. Dank dem Beisein des Harnes beginnen einige

Mikroorganismen die Oxydation der harten Bestandtheile des Mistes, während sie ohne denselben unthätig bleiben. Ein solcher indirekter Einfluß des Harns wurde, mit Ausnahme des oben angeführten Beispiels, schon früher bei der Erklärung der Versuche der Tabelle II beobachtet.

Worin nun in Wirklichkeit der indirekte Einfluß des Harnes besteht, dies zu entscheiden, bleibt noch der Zukunft vorbehalten. Es ist jedoch nicht unmöglich, daß hier nicht der Mangel an Mineralstoffen oder an irgendwelchen anderen für das Leben der Zelle notwendigen Bestandteilen ohne Bedeutung ist, welche nicht im Kot enthalten sind, sondern nur aus dem Harn genommen werden können.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Morphologie der Blastomyceten.

[Aus dem Botanischen Institut der Kgl. Universität Catania.]

Von

Dr. O. Casagrandi.

(Schluß.)

### Natur der Körnchen.

Wie aus den Resultaten der morphologischen und mikrochemischen Untersuchungen zu sehen ist, ist die Frage nach der Natur dieser Körnchen sehr kompliziert. Es haben sich Krasser (19), Raum (20), Hieronymus (4), Will (1), Eisenschitz (16) u. s. w., um nur die Botaniker zu erwähnen, darüber ausgesprochen, und ein jeder von ihnen gab den Körnchen eine andere Deutung.

Ich will hier vor der Hand nicht eine Ansicht nach der anderen durchgehen, sondern mich darauf beschränken, auszusprechen, daß die Untersuchungen von Will mir noch am meisten, wenigstens soweit ich es feststellen konnte, der Wahrheit zu entsprechen scheinen.

In der That beobachtete Will, daß die genannten Körnchen sich mit Osmiumsäure schwärzten, mit Alcannatinktur eine zinnoberrote Färbung annahmen, sich in Alkohol, Aether u. s. w. lösten, und er schloß daraus, daß sie aus einer Fettsubstanz beständen. Aber noch mehr. Will beobachtete, daß, wenn durch die Behandlung mit absolutem Alkohol die ölige Substanz ausgezogen war, an der Stelle der Körnchen feine und blasse Bläschen zu sehen waren, in deren Innern man ein Netz wahrnehmen konnte.

Wenn ich mir nun alle die Versuche, welche mit wirklichen Reagentien auf Fettsubstanz angestellt wurden, vor Augen halte, so muß ich in vollkommener Uebereinstimmung mit Will den genannten Körnchen eine Natur, wie sie den Fettsubstanzen eigen ist, zuerkennen.

Ich habe nämlich bei ihnen Schwärzung mit Osmiumsäure, zinnoberrote Färbung mit Alcannatinktur, Lösung in absolutem Alkohol, Aether, Chloroform u. s. w. erhalten, alles Reaktionen, wie sie den Fettsubstanzen eigen sind.

Uebrigens mache ich noch einmal darauf aufmerksam, daß ich keinen Unterschied mache zwischen großen und kleinen Körnchen, zwischen Körnchen, welche wirklich aus Fettsubstanz bestehen, und solchen von chromatischer Natur; sagte ich doch bereits oben, daß alle Körnchen sich den angewandten Reagentien gegenüber gleich verhalten, nach längerer oder kürzerer Einwirkung.

Da dies feststeht, glaube ich mich zu der Behauptung berechtigt, daß sie weder chromatische, noch krystalloide Körnchen, noch Granula sind.

Im übrigen liegt, von der Fettreaktion ganz abgesehen, sicher kein genügender Grund vor, chromatische Granula anzunehmen, bloß weil sie Farbstoffe aufnehmen, weiß man doch, daß verschiedene Fette, wenn sie in ganz kleine Partikelchen zerlegt sind, gleichfalls im stande sind, Anilinfarben, wie Methylenblau, Safranin, anzunehmen, wie ich es selbst auch habe beobachten können.

Ebensowenig liegt genügender Grund vor, sie als Krystalloide anzusehen, weil sie das angegebene Verhalten gegen Säuren, Alkalien u. s. w. aufweisen und zu gleicher Zeit eine Gestalt besitzen, die, wenn auch nicht gerade geometrisch, so doch eckig ist. Weiß man doch, daß die Fette recht gut erstarren und solche Gestalt annehmen können, daß man sie mit Krystalloiden verwechseln könnte. Ja, es ist sogar im vorliegenden Falle anzunehmen, daß die in Rede stehenden Körnchen wirklich erstarrt sind, wenn sie jung und eckig sind, und daß sie nur dann flüssig sind, wenn sie von selbst kugelige Gestalt angenommen haben, oder nachdem sie mit verschiedenen Reagentien behandelt worden sind. Diese beiden physikalischen Zustände der Körnchen haben auch ihre Bedeutung in Bezug auf die Deutung, welche ihnen bisher widerfahren ist. Man versteht in der That leicht, wie einige Körnchen, nämlich die flüssig gewordenen, sich leichter lösen und weniger Widerstand leisten u. s. w. als andere, nämlich die nicht flüssigen.

Ebensowenig kann man endlich die in Rede stehenden Körper als Granula im Sinne von Zimmermann auffassen, schon allein aus dem Grunde nicht, weil sie ungefärbt bleiben bei einer Behandlung, welche diese Körper zu differenzieren geeignet ist.

Die einzige Frage, welche nun also zu erörtern übrig bliebe, wäre die, ob sie Plastidule sind oder nicht. Erkannte doch Will, daß sie aus einem Bläschen, einem Netzwerk und einem öligen Inhalte bestehen.

Nun wohl, ich konnte feststellen, daß in Wirklichkeit jedes Körnchen der Blastomyceten von einer, sagen wir einmal bläschenartigen Hülle umgeben ist, welche in intensiver Weise Farbstoffe aufnimmt, sodaß man sie gerade durch diese intensivere Färbung der plasmatischen Grundsubstanz gegenüber zur Darstellung bringen kann. Man erreicht diesen Zweck, wenn man die Blastomyceten mit einer alkoholischen Lösung von Sublimat fixiert und, nachdem man durch Behandlung mit absolutem Alkohol die ölige Substanz vollkommen ausgezogen hat, mit 20-proz. Fuchsin färbt, mit Pikrinsäure (1 Teil) und Wasser (2 Teile) (nach der Methode von Zimmermann (21) für die Färbung der Plastiden) entfärbt. Nach solcher



Behandlung sieht man die in Rede stehenden Hüllen gefärbt, und durch ihre Färbung heben sie sich gut von dem gelben Grunde des Protoplasmas ab. Mehr als diese Bläschen zu sehen, war ich jedoch nicht imstande. Aus diesem Grunde kann ich das Vorhandensein eines Netzes innerhalb dieser Bläschen nicht bestätigen. Im Gegenteil bin ich der Ueberzeugung, daß die Erscheinung, welche man nach dem Ausziehen mit absolutem Alkohol (in jenen Blastomyceten, welche große Körnchen oder auch nur ein einziges Körnchen besitzen) wahrnimmt, und welche den entfernten Gedanken aufkommen läßt, daß es sich um ein Netz handle, nichts weiter ist, als das Resultat einer Gerinnung, welche durch die von dem absoluten Alkohol bewirkte Wasserentziehung herbeigeführt wird.

Wenn ich hiernach das, was ich in Bezug auf die Körnchen der Blastomyceten beobachtet habe, zusammenfasse, so glaube ich mich zu folgenden Schlüssen berechtigt:

1) Die Körnchen der Blastomyceten werden von protoplasmatischen Bläschen gebildet, welche bei den jungen Elementen, oder wenn die Körnchen klein und eckig sind, mit fester Fettsubstanz angefüllt sind. Bei den erwachsenen Elementen, oder wenn die Körnchen rund oder auch der Wirkung von Säuren, Alkalien u. s. w. ausgesetzt wurden, ist die Fettsubstanz flüssig.

2) Die Körnchen der Blastomyceten zeigen einerseits eine Reihe mikrochemischer Reaktionen, welche den Fettsubstanzen eigen sind, andererseits einige Reaktionen der Protein- und Nukleinsubstanzen. Wenn ich im ersteren Falle von Fettsubstanzen rede, so brauche ich diesen Ausdruck nur in einem ganz allgemeinen Sinne, ich will durchaus nicht damit etwas über die chemische Zusammensetzung ausgesagt haben. Die ersten Reaktionen erfolgen seitens des Inhaltes der Körnchen, die zweiten beziehen sich auf die stärker färbbare, membranartige Schicht der umgebenden protoplasmatischen Grundsubstanz, obgleich es nicht ausgeschlossen ist, daß sich im letzteren Falle auch der Inhalt selber färbt, weil die Fettsubstanzen, wenn sie fein zerteilt sind, auch imstande sind, wie ich bereits oben bemerkt habe, Farbe aufzunehmen.

3) Dies vorausgeschickt, ist es leicht zu begreifen, wie gewisse Körnchen den Reagentien gegenüber sich widerstandsfähiger zeigen als andere, und wie nach dem Verschwinden von einigen von ihnen die übrigen noch empfänglich für Farbstoffe sein können, ohne daß man darum einen Unterschied zwischen chromatischen Körnchen und Reservegranula machen darf<sup>1)</sup>.

### III. Ueber den Kern der Blastomyceten.

Die Untersuchungen über den Kern der Blastomyceten, wenschon sie heutzutage sich bestreben, das Vorkommen eines solchen in jeder Blastomycetenzone nachweisen, sind weit davon entfernt, zu exakten

---

1) Ich hätte hier eigentlich auch das Verhältnis der Granula zu den Vacuolen berühren müssen; ich will aber auf die Frage hier nicht eingehen. Nur so viel will ich sagen, daß die einen von den anderen unabhängig sind. Die Vacuolen bilden sich in den Blastomyceten oft vor dem Auftreten der Granula und umgekehrt.

Schlüssen gelangen zu lassen, weil nämlich einige Autoren an seinem Vorkommen festhalten, andere dasselbe in Abrede stellen.

Ich habe die Untersuchungen, welche von verschiedenen Autoren angestellt wurden, wieder aufgenommen, mir aber dabei die größte Mühe gegeben, soviel als möglich jene anderen Körper, welche in den Blastomyceten vorkommen und zu Irrtümern Veranlassung geben konnten, zu eliminieren.

Ich will aber hier vor der Hand noch nicht über die Resultate meiner Untersuchungen berichten, weil diese, wenn sie vollendet sein werden, Gegenstand einer zweiten Abhandlung sein sollen. Ich teile für jetzt nur mit, daß ich des Vorkommens eines Kernes in den Blastomyceten sicher bin, eines Kernes, dessen Ruhestadium nur in den ruhenden Zellen wahrgenommen werden kann. In den in Knospung begriffenen Zellen zeigt er gewisse Gestalten, welche die Meinungsunterschiede der verschiedenen Autoren in Bezug auf die Feststellung, ob eine mitotische oder amitotische Teilung stattfindet, zu erklären imstande sind. Solche Formen sind zweifellos sehr schwer richtig zu deuten. Es scheint mir jedoch, als ob sie eine große Aehnlichkeit mit jenen haben, welche Bütschli (22) in seiner Arbeit über die Struktur der Bakterien und Cyanophyceen abgebildet hat, und zwar besonders mit denjenigen, welche genannter Autor an dem Kerne der Beggiatoen beobachtete.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. P. Baccarini, der mir bei meinen Untersuchungen stets in lebenswürdigster Weise mit seinem Rate zur Seite stand und mir zu gleicher Zeit alle Hilfsmittel, welche ich zu meinen Arbeiten nötig hatte, in zuvorkommendster Weise zu meiner Disposition stellte, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Catania, im Dez. 1896.

#### Litteratur.

- 1) Will, Untersuch. an vier untergärtigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XVIII. 1895.)
- 1a) —, Die Dauerzellen. (Centr. f. Bakt. u. Paras. II. Abt. 1896.)
- 2) Strasburger, Bot. Practicum. Jena 1887.
- 3) Bizozero, Sui microfiti dell'epidermide umana. (Atti Acc. Torino. 1894.)
- 4) Hieronymus, Ueber die Organisation der Hefezellen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XI. 1893. No. 2.)
- 5) Curtis, Contribution à l'étude de la Saccharomycose humaine. (Ann. Inst. Pasteur. 1896. p. 449.)
- 6) Hansen, Sur la germination des spores chez les Saccharomyces. (Ann. Microgr. T. III. 1890—91.)
- 7) Mangin, Observations sur les membranes cellulosiques. (Compt. Rend. de l'Acad. d. Sciences, Paris. T. II. p. 1069.)
- 8) Giltay, Sitzungsab. d. Akad. Amsterdam. 1883. p. 12.
- 9) Sanfelice, Ann. Igiene, Roma. 1894.
- 9b) Fermi, Sulla biologia dei Blastomyceti. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. II. Abt. 1896; Policlinico. Anno III. No. 28.)
- 10) Mangin, Sur la présence des composés pectiques dans les végétaux. (Compt. Rend. de l'Acad. d. Sciences, Paris. 1889. Octobre.)
- 11) Cörner, cfr. Fischer, Untersuch. über Bakterien. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXVIII. 1885.)

- 12) Mangin, cfr. Atti Congr. Internation. Bot. Genova 1894, etc.
- 13) Mattiolo u. Buscalioni, Sulla struttura degli. spazi intercellulari delle Papilionacee. (Malpighia. Anno III. 1889—90, p. 143.)
- 14) Nägeli u. Löw, Ueber die chem. Zusammensetzung der Hefe. (Sitzungsb. d. bayr. Akad. d. Wiss. 1878. p. 161.)
- 15) Zimmermann, Beihefte z. Bot. Centralbl. Bd. III. 1893. p. 430.
- 16) Eisenschitz, Ueber die Granulierung der Hefezellen. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. II. Abt. Bd. I. 1895. p. 674.)
- 17) Möller, Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. I. Abt. Bd. XII. 1892. p. 537.)
- 18) Zimmermann, Zeitschr. f. Mikr. Bd. XII. 1895. p. 263.
- 19) Krasser, Oesterr. Bot. Zeitschr. 1895. No. 11.
- 20) Raum, Zeitschr. f. Hygiene Bd. X. 1891. p. 1.
- 21) Zimmermann, Bot. Mikrotechnik. Tübingen 1892.
- 22) Bütschli, Ueber den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1896.

*Nachdruck verboten.*

## Bacteriosis of Carnations<sup>1)</sup>.

By

Albert F. Woods,

Assistant chief, Division of Vegetable Physiology and Pathology, U. S. Department of Agriculture, Washington, D.C., U. S. A.

With 1 plate and 1 fig.

During the past two or three years the writer has had under investigation a disease of the Bermuda or Easter lily (*Lilium Harrisii*). Early in the course of this work it was observed that the disease of the lily possessed certain characteristics in common with one affecting carnations (*Dianthus caryophyllus*), first described by Dr. J. C. Arthur in a paper<sup>2)</sup> read before this Association at its meeting in Toronto in 1889. Through this paper and other publications of Dr. Arthur<sup>3)</sup> and of Arthur and Bolley<sup>4)</sup> the disease has come to be generally known as "Bacteriosis of carnation". In connection with the work on the lily disease<sup>5)</sup> "Bacteriosis" of carnations has received considerable attention during the past year, and the object of this paper is to briefly review some of the results obtained.

For a general description of the disease the following, quoted from the bulletin by Arthur and Bolley, already cited, covers the ground thoroughly: "Bacteriosis is a disease of the carnation leaf, rarely attacking the stem or other parts of the plant. It generally starts in the leaf when immature, and is best diagnosed in the younger,

1) Pap read Aug. 10. 1897, before Section G, A. A. A. Sci.

2) Arthur, J. C., Proc. Amer. Ass. Adv. Sci. Vol. XXXVIII. 1889. p. 280.

3) Arthur, J. C., Amer. Florist. Vol. VI. 1891. p. 419. — Rep. Amer. Carnation Soc. 1892. p. 52. — Rep. Amer. Carnation Soc. 1894. p. 12. — Amer. Florist. Vol. IX. 1894. p. 467.

4) Arthur and Bolley, Purdue University Agr. Exp. Sta. Bull. No. 59. Vol. VII. March 1896. p. 38. plates 8.

5) The lily disease has been fully discussed in a bulletin soon to be issued by the Division of Vegetable Physiology and Pathology, U. S. Dept. of Agr.

but full-sized leaves nearest the upper end of the stem. Taking such a leaf, which on its surface presents no unusual appearance to the eye, and holding it toward strong light, small, pellucid dots may be detected scattered irregularly through the leaf, sometimes having a faint yellowish color, which are the centers of infection. The appearance of the dots has a close resemblance to those of the oil glands in the leaves of the common St. John's wort (*Hypericum perforatum*), a rather abundant weed, or in the leaves of the false indigo (*Amorpha fruticosa*), a native shrub, except that they have no regular disposition. Sometimes the surface of the leaf is slightly raised over the dots, making watery pimples.

"After a time the surface of the leaf above the dots changes enough to indicate their presence, and finally shows a distinct spot. As the disease extends inside the leaf the surface tissues collapse and whitish sunken spots appear. In some colored varieties of carnation the spots vary somewhat by being more or less reddish or purplish. As the spots increase in size the leaves wither, still clinging to the stem. Such spots never show distinct darker-colored specks and rarely any concentric circles, as do the spots made by parasitic fungi, such as *Septoria* (spot disease) and *Heterosporium* (fairy ring).

"Very badly diseased plants, especially when much crowded and growing in damp atmosphere, have more yellowish green leaves than normal, of a more transparent appearance, and usually smaller. The lower leaves of diseased plants in any atmosphere or soil die prematurely and the vitality of the plant is so lowered as to check the growth and decrease size and number of the flowers."

Arthur and Bolley find that "no varieties of the carnation are exempt from the disease, but they differ much in susceptibility. The seat of this difference is chiefly in the vigor of the plant. Poorly grown plants are more affected than those well grown. Partly starved or stunted plants are specially liable to attack." They found the disease at Indianapolis, La Fayette, and many other places in Indiana, and in Buffalo, Boston, New York, Toronto, Chicago and Lincoln. They say it is common throughout eastern North America wherever carnations are grown extensively, and conclude that it is caused by "parasitic bacteria entering the plant from the air through the stomata or occasionally through the punctures of aphides<sup>1)</sup>."

The disease which has formed the subject of our studies agrees in all essential points with the one just described, except that it is not caused by bacteria. Our material was obtained from many of the large centers of carnation growing in the United States, and through the kindness of Dr. Arthur good specimens were recently sent in from Mr. Fred Dorner's place at La Fayette, Ind.

### Methods of Study.

**Microscopic investigations.** — Material showing various stages of the disease was killed by both the chromic acid and absolute

---

1) Arthur and Bolley, l. c. p. 32 and 37.

alcohol methods, dehydrated with alcohol and infiltrated with paraffin in the usual way. Microtome sections were then cut and mounted in series, and these were stained with Ziehl's carbol fuchsin, and, according to Gram's method, with anilin water gentian violet. The cells of the diseased spot were found to be much larger than normal, thin walled, and oedemic. The chloroplasts were smaller than in healthy cells and were colorless or yellowish (see fig. 3). Even after the most thorough and careful staining no parasitic or saprophytic organism could be detected in the tissues of these spots before the epidermal cells collapsed. In some cases after they collapsed fungi and bacteria were readily distinguished but usually only in small numbers.

**Cultures.** — After many trials by washing and flaming it was found to be impossible to free the surface of a carnation leaf from outside germs by any means which might not also destroy germs in the tissues. Cultures were therefore made from the diseased mesophyll direct by very carefully peeling off the epidermis and scraping out the inner tissues with a flamed scraper which had been allowed to become perfectly cool. From one to twenty spots, varying in size from 0.5 mm to 2 mm in diameter, were included in each culture. Altogether about five hundred cultures were made in various media, such as slightly acid, neutral, and slightly alkaline beef broth, with and without peptone; potato broth of various strengths; cauliflower broth; potato cylinders; agars of various composition; nutrient gelatin, acid, neutral, and alkaline to litmus and to phenolphthalein etc. In no case were organisms found in any culture made from a spot before the epidermal tissues had collapsed. In cultures made from spots which had collapsed various fungi and bacteria were occasionally obtained, but not constantly or always of the same sort. Cultures including the epidermis frequently contained various organisms, among which was a yellow bacterium which occurred frequently on the surface of both diseased and healthy leaves and which resembled in many respects the organism described by Arthur and Bolley as *Bacterium dianthi*, the cause of "bacteriosis". Infection experiments were made with this and other organisms, but the disease was not produced in any case.

From this work and the fact that no fungi or bacteria whatever were found associated with the disease in its earlier stages I was led to look in other directions for the cause.

#### Relation of aphides and thrips to the disease.

**Aphides.** — Early in the work my attention was called to the manner in which aphides attack the plant. A careful study revealed the fact that the insects in question were seldom if ever absent from plants, and that when present even in limited numbers they were capable of producing effects identical in every way with those described under the name of "bacteriosis" (see plate, fig. 1).

Studies of serial sections of spots produced by the aphides showed a breaking or laceration of the mesophyll cells extending from the epidermis to various depths into the leaf (see fig. 3).

Oedemic swellings start from these points, resulting eventually in the development of all the characteristic symptoms described. Colonization experiments with the aphides were repeatedly made and it was found that the insects alone were capable of producing the disease and that neither fungi nor bacteria were present until the malady was well advanced, and in such cases not regularly nor constantly present. In the colonization work it was found that the insects crawl between the young leaves on the growing shoots and do most of their work where they can not be reached by tobacco smoke in sufficient strength to kill them. It was further found that it takes about two weeks

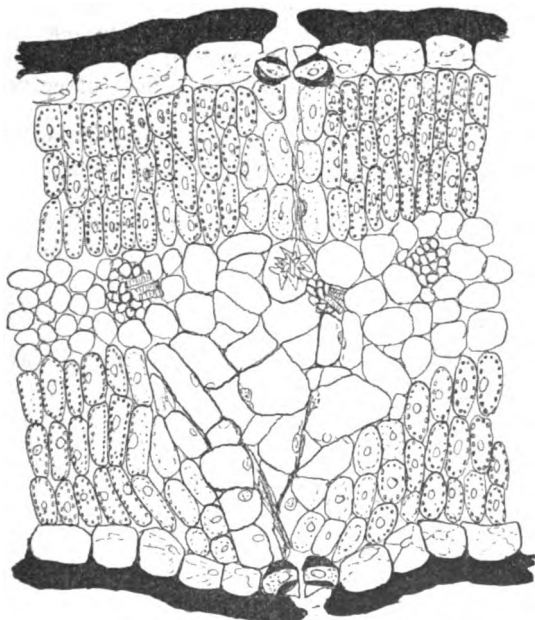


Fig. 3.

for a puncture to become visible to the naked eye, appearing first as a minute translucent dot, accompanied by slight swelling of the tissues. Severe cases of the trouble were produced in perfectly healthy plants by colonizing the insects upon them, and the new growth of badly diseased plants was kept entirely free from the malady by eliminating the aphides and other puncturing insects. These results were obtained repeatedly in the laboratory and in the greenhouse.

**Thrips.** — Another form of spotting, usually accompanied by distortion of the young leaves and often of the stems, was found to be produced by thrips (see plate, fig. 2). These spots can be readily distinguished from the work of aphides, being very irregular in shape and having mossy outlines. The changes produced in the

cells of the leaf, however, are apparently the same as those brought on by the aphides, except that the mesophyll cells are not lacerated. Sections and cultures were repeatedly made from spots produced under our control by aphides and thrips, but no organisms were obtained from the mesophyll in any case.

Throughout the work it was found that certain varieties of carnations were much more subject to the attacks of both aphides and thrips than others. Susceptibility, however, was found to depend more upon the inherent characteristics of individual plants than upon the variety. In most cases susceptibility to attack is the direct result of improper methods of cultivation. This is only expressing in another way a fact already well recognized by carnation growers, namely, that the disease under consideration is one which in most cases can be readily controlled by care in the selection and propagation of stock and attention to all the details of cultural conditions.

Summarizing it may be said that —

1) The disease of carnations characterized by the symptoms already described and generally known as "bacteriosis" is widespread and destructive.

2) In the earlier stages of the disease neither fungi nor bacteria are present, so far as can be determined by the most careful microscopic studies and bacteriological investigations.

3) As the disease advances various organisms may appear, but their presence is not constant.

4) Infection experiments with such organisms, carried on under rigid bacteriological conditions, resulted negatively in every case.

5) A disease having all the characteristic symptoms of "bacteriosis" excepting the presence of a bacterium, is produced by the puncture of aphides, as was repeatedly proved by the colonization of these insects on the plants.

6) That the aphides alone are responsible for the trouble is shown by the fact that the injuries produced are not accompanied in the earlier stages by fungi or bacteria. The aphides, therefore, can not be looked upon simply as carriers of some fungus or germ<sup>1</sup>).

7) Injuries similar in many respects to those produced by aphides also result from the attacks of thrips, an insect nearly always present on carnations under glass, although generally overlooked by growers.

8) The carnation is a plant readily influenced by the conditions under which it is grown, and as a result the reaction to the injuries of the aphides and the susceptibility to their attacks not only vary with varieties, but with individuals of the same variety. Plants, therefore, grown under improper conditions will show more of the characteristic injuries from a given number of aphid punctures than those where all the conditions have been favorable for growth.

9) Proper selection and propagation of stock; furnishing soil, moisture, light, and air best adapted to healthy and vigorous growth;

---

1) See M. Büsgen, Der Honigtau. Biologische Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen. Bes. Abdr. a. d. Jen. Zeitschrift für Naturwissenschaft. Bd. XXV. N. F. Bd. XVIII.







Fig. 1.) Upper series punctured by Aphides.

Fig. 2.) Lower series punctured by Thrips.

and keeping down to a minimum the number of aphides and thrips will enable the grower to successfully combat the disease.

15. August 1897.

#### Description of Figures.

Fig. 1. Carnation leaves showing spotting due to the puncture of aphides. Natural size. From a photograph.

Fig. 2. Carnation leaves showing spotting due to the work of Thrips. Natural size. From a photograph.

Fig. 3. Section through the center of a spot produced by the punctures of aphides, showing lines of puncture, oedemic swelling, and disappearance of chloroplasts.  $\times 100$ . The beak of the ophis is usually inserted through the stomata.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über Kartoffelkrankheiten.

### 2. Ansteckungsversuche mit *Fusarium Solani*. (Die *Fusarium*-Fäule.)

Von

Dr. C. Wehmer.

Mit 2 Tafeln.

*Fusarium Solani* Sacc. (= *Fusisporium* S. Mart.) ist ein erklärter Schädling der Knolle, welcher umfangreich irgendwie beschädigtes lebendes Gewebe abtötet und zersetzt. Sein Eindringen endet fast regelmäßig mit einer totalen Zerstörung der Knolle, mag diese nun mehr oder minder feucht oder auch ganz trocken lagern.

Wenn man darüber bislang anderer Ansicht war, so fußte diese Meinung auf dem negativen Ausfall früherer Infektionsversuche, die aber nach allem nur beiläufig angestellt und jedenfalls nicht erschöpfend waren<sup>1)</sup>. Unter richtig gewählten Verhältnissen gelingen derartige Versuche fast durchweg und mit wenigen Ausnahmen; es resultiert dann jener bekannte, durch Schrumpfen und meist auch Hervordringen von Pilzpolstern (*Fusarium*) charakterisierte Zustand absterbender Knollen, für den die Bezeichnung „Trockenfäule“ jedenfalls sehr bezeichnend ist.

In Nachfolgendem mag diese Thatsache durch eine Reihe von in den letzten Jahren angestellten Versuchen etwas näher belegt werden<sup>2)</sup>. Die Verzögerung in der Mitteilung des ausführlicheren Materials wurde zum guten Teil durch den vor Jahresfrist erfolgten plötzlichen Tod des Herrn A. Borchers — meines mitten aus der Arbeit davongegangenen unermüdeten Mitarbeiters — bedingt; eine Reihe angeregter Fragen mußte dieserhalb auch ganz liegen bleiben, so daß ich hier über die Versuche referiere, soweit sie abgeschlossen wurden. Das Detail ist am Schluß der Arbeit zusammengestellt; zur Erläuterung

1) Die bekannte Litteratur wird hier kürzshalber nur beiläufig berücksichtigt.

2) Ueber eine vorläufige Mitteilung cf. Ber. d. D. Botan. Gesellsch. 1896 p. 101.

dient überdies die photographische Wiedergabe einiger Versuchsknollen (Taf. I).

1. Versuchssreihe. Uebertragung des Pilzes auf gesunde Knollen.

Die Versuche wurden zu verschiedenen Zeiten mit käuflichen Knollen verschiedener Art angestellt (Eierkartoffel, Magnum bonum, junge afrikanische Kartoffeln etc.). Impfung geschah mit Conidien oder Hyphengewebe von Reinkulturen durch Platinnadel in kleine, vorher gemachte Einstiche oder Einschnitte der peripheren Korkschale oder einer zuvor angelegten Schnittfläche der sauber gewaschenen Knollen, die auf der Bank einer feuchten Kammer lagen. 10 Versuche verschiedenen Datums (Dezember—März 1896), von denen 9 endgiltig ein deutliches positives Resultat gaben (Taf. I, Fig. 7—8, 14—16).

Verlauf. Ein Erfolg der Impfung oder Aussaat tritt in den ersten Tagen gewöhnlich noch nicht hervor; hinsichtlich der Zeit, die bis zum Eintritt der Wirkung vergeht, verhalten sich die einzelnen Versuche überhaupt sehr verschieden, was in geringfügigen Besonderheiten der Bedingungen, Sorte und Alter der Knollen, also in bestimmten Fällen auch in dem Zeitpunkt der Infektion, seinen Grund haben mag<sup>1)</sup>. Der Prozeß des Fortschreitens der Hyphen in dem Gewebe geht im allgemeinen überhaupt nicht so schnell von statten, daß man von heute zu morgen Resultate erwarten darf; es können unter Umständen bis zu 8 Wochen vergehen, bis die ersten dem Auge sichtbaren Wirkungen eintreten. Mehrfach genügen dazu aber 1—2 Wochen und weiterhin geht dann die Sache merklich schneller.

Außerlich tritt der Erfolg zunächst in Gestalt des bekannten faltigen Einsinkens der Schale rund um die Impfstelle hervor (Taf. I, Fig. 7—8). Volumenverminderung infolge Wasserverlusts der absterbenden Zellen führt zu einer merklichen Schrumpfung. Die unterhalb der Schale liegende halbmondförmig begrenzte Partie ist gebräunt und dicht von Hyphen durchsetzt, deren letzte Ausläufer auf der Grenze gegen das helle Gewebe zu finden sind (Taf. II, Fig. 1—2). Die Bräunung schreitet nur allmählich nach innen fort, während die äußerliche Faltenbildung der Schale zunimmt und mehrfach die bekannten weißen Conidienpolster hervorbrechen. Letztere Erscheinung ist aber nicht regelmäßig, somit von irgend welchen anderen Umständen mit abhängig. Endgiltig ist die ganze Knolle äußerlich dürr (Voraussetzung ist hier eine nicht allzu feuchte Atmosphäre), innen gebräunt und nach allen Richtungen von farblosen septierten Hyphen (inter- und intracellular) dicht durchzogen. Organismen anderer Art fehlen, die Stärkekörner sind intakt. Weiterhin beginnt nun ein stärkeres Austrocknen, etwaigenfalls Entstehung von Hohlräumen, Wiederaufhellen des Innern (Lösung der braungefärbten Wände etc.) und gänzliches Dürrwerden der grauweißen oder stellenweise noch

1) Ebenso ist der Pilz selbst bislang physiologisch nicht näher bekannt. Da wäre z. B. auch sein Verhalten gegen verschiedene Substrate, saure und alkalische Reaktion etc. noch zu berücksichtigen.

bräunlichen Masse. Damit ist die „Trockenfäule“ total geworden. Einzelheiten werden unten noch Erwähnung finden, (im übrigen cf. Taf. I).

Bei Aussaat auf die frische Schnittfläche modifiziert sich der Prozeß in entsprechender, übrigens unwesentlicher Weise.

Dieser charakteristische Verlauf wiederholte sich in der weitaus größten Mehrzahl der Fälle; Abweichungen waren unbedeutend und ein Mißlingen selten. Störungen können jedoch durch Hinzukommen von Fäulnisbakterien eintreten, denn die zersetzte Masse von lebhaft alkalischer Reaktion liefert denselben einen guten Nährboden; in erster Linie sind also größere freiliegende Wunden, besonders aber allzu feuchte Atmosphäre, zu vermeiden. Im übrigen treten die Bakterien meist in den bereits zersetzten Teilen, also nicht an der Grenze gegen das lebende Gewebe, auf.

Somit ergaben also Infektionsversuche, daß der Pilz verletzte Knollen angreift und nach Verlauf längerer oder kürzerer Zeit, ohne durch Korkbildungen gestört zu werden, eine völlige Zersetzung der gesunden Knolle herbeiführt.

2. Versuchsreihe. Uebertragung trockenfauler Gewebesteile *Fusarium*-kranker Knollen<sup>1)</sup> auf gesunde Knollen.

Durch diese Versuche sollte Ansteckung und Zerfall gesunden Gewebes in Berührung mit krankem direkt gezeigt werden. Es wurden hierzu Stückchen aus dem Innern *Fusarium*-kranker Knollen vorsichtig herausgeschnitten und in Einschnitte gesunder Knollen gebracht, oder pyramidale Ausschnitte dieser durch krankes Gewebe ersetzt. Im einzelnen gilt das vorher über Bedingung und Anordnung der Versuche Gesagte. Uebermäßige Feuchtigkeit ist ebenso zu vermeiden wie allzu hohe Temperaturen, da beides Störungen durch bakterielle Zersetzungen begünstigt. Mehrere Versuche wurden deshalb auch hier an freier Luft und überdies bei relativ niedriger Temperatur (Februar im ungeheizten Raum bei 3—8° C.) ausgeführt; für andere gilt Zimmertemperatur von im Mittel 15° C. Zahl der Versuche 5 (mit je 1 bis 4 Knollen), von denen 4 ein klares positives Resultat gaben.

Verlauf. Eintritt und Verlauf der Erscheinungen entsprach ganz den obigen. Nach einer bis mehreren Wochen beginnt das dem kranken angrenzende Gewebe der gesunden Knolle sich in ganz gleicher Weise zu verändern: Schrumpfen der Schale und Bräunung unter Vordringen der charakteristischen Hyphen. Nach 4—6 Wochen war die Mehrzahl der Versuchsknollen total trockenfaul und unter den bezeichnenden Erscheinungen abgestorben, ohne daß irgendwelche innere Korkbildungen diesen Einhalt gethan hätten. Die Zersetzung ergab überall auch mikroskopisch das gleiche eindeutige Bild.

Durch Einführung trockenfauler *Fusarium*-durchsetzter Parteen kann die Erkrankung somit fast regelmäßig hervorgerufen werden; es ist bemerkenswert, daß hier auch niedere Temperaturen ohne Ein-

---

1) Wo hier überall von „*Fusarium*-kranken“ oder auch „trockenfaulen“ Knollen die Rede ist, versteht sich Abwesenheit anderer Organismen von selbst.

fluß auf ihr Fortschreiten sind. Die auf der Schnittfläche der gesunden Knolle entstehende neue Korkschicht leistet unter derartigen Bedingungen also so gut wie nichts; entweder ist sie lückenhaft, oder sie wird direkt durchbrochen, das bleibt noch näher zu verfolgen.

3. Versuchsreihe. Impfung mit Sporen anderer Pilze unter übrigens gleichen Bedingungen wie in der 1. Versuchsreihe.

Es wurden dazu die in Reinkultur vorliegenden *Fusarium moschatum* und *Spicaria Solani* verwendet; ersteres um zu versuchen, ob gleiche Resultate wie oben mit jeder beliebigen Art zu erhalten sind, letztere um den bereits vorliegenden Verdacht bezüglich gleichen Verhaltens der *Spicaria* zu prüfen. 7 Versuche mit durchweg negativem Ausfall (von Dezember bis Februar). Zahl der Versuchsknollen je 1 bis 5.

Verlauf. Die Impfwunden vernarbt und blieben wochenlang unverändert. Auch noch nach 4 Wochen war das Aussehen wie im Anfang und nur in einigen Fällen bildeten sich kaum sichtbare helle Vegetationen von *Spicaria* auf der eingetrockneten Wunde oberhalb der Korkschicht, unterhalb deren das Gewebe hell und normal aussehend blieb.

Die beiden hier genannten Pilze rufen unter übrigens gleichen Umständen somit nicht derartige Zersetzungen hervor; ihr Verhalten war rein negativ. Aus den Versuchen ergibt sich gleichzeitig, daß für den Ausfall der obigen Versuche allein die Gegenwart des *Fusarium* in Frage kam.

Wir haben hiermit dargethan, daß der Pilz verletzte Knollen sehr wohl angreift, und diese nicht schwer zu erweisende Thatsache zunächst keineswegs von irgendwelchen anderen Pilzarten auch gilt. *Fusarium* ist also ein spezifischer Zersetzungserreger der Knolle.

Es bleiben nunmehr zunächst noch 2 Punkte zu beantworten, nämlich einmal: Kann der Pilz auch unverletzte Knollen unter irgendwelchen Umständen infizieren? und weiterhin: Ist er überall vorhanden bzw. tritt derselbe bei Verletzungen irgendwelcher Art, sowie überhaupt spontan in umfangreicherem Maße auf? Das wäre sowohl für den Acker wie die winterlichen Vorratsräume zu zeigen von Interesse.

Wir erörtern zunächst den ersten Punkt. Hier stellte sich heraus, daß die Sache keineswegs so ohne weiteres geht. Die eingehaltenen Bedingungen spielen offenbar eine wesentliche Rolle und gewöhnlich verlaufen derartige Versuche negativ. Bei mannigfacher Variation derselben ist es mir aber doch gelungen, schließlich einige positive Resultate zu erzielen, und ich bemesse deren Beweiskraft um so höher, als die Bedingungen nicht etwa ganz abnorme waren, sondern sich in der That gelegentlich auch in der Praxis realisiert finden. Und die etwaige Uebertragbarkeit der Resultate auf praktische Verhältnisse bildet hier doch stets den Hintergrund.

4. Versuchsreihe. Ansteckungsversuche gesunder unverletzter Knollen durch kranke (Taf. I, Fig. 11—13).

Die Annahme, daß kranke, trockenfaule Knollen die sie berührenden gesunden nicht anzustecken vermögen, trifft unstreitig für

viele Fälle zu. Sie ist aber keineswegs Regel, wie bei allen derartigen Dingen sind die besonderen Umstände offenbar von ausschlaggebender Bedeutung. Eine besondere Rolle spielen hier scheinbar Temperatur, Luftfeuchtigkeit und vielleicht auch noch Momente, die sich zur Zeit noch nicht übersehen lassen. Die Einzelversuche (Januar bis Juli 1896) müssen also gesondert aufgezählt werden.

a) Zunächst fand die Anordnung einfach so statt, daß gesunde und trockenfaule gemischt auf Bänke der großen feuchten Kammer gelegt und beide durch wiederholtes Besprengen feucht gehalten wurden — hier war in zwei zu verschiedenen Zeiten (14. Jan. und 22. Jan. 96) angesetzten Versuchen (mit je 12 Knollen) nach rund 4 Wochen noch alles unverändert, also die gesunden von gleichem Aussehen wie anfangs und ohne kranke Stellen. Ein Hinüberwachsen der Hyphen von den *Fusarium* polstern der kranken Exemplare auf die Oberfläche der sie berührenden gesunden wollte nicht eintreten. Weitere ähnlich angestellte Versuche gaben gleiches Resultat; bei zu starkem Befeuchten gingen die trockenfaulen in bakterielle Zersetzung über, so daß nunmehr die feuchte Kammer verlassen und nach verschiedenen Seiten hin „probiert“ wurde.

b) Verwendung weiter hellfarbiger Gläser (sog. Einmachegläser) mit losem Deckel oder Papierverschluß, in welchen die gesunden und kranken in größerer Zahl aufgeschichtet wurden, so daß jedenfalls auch eine weit engere Lagerung resultierte. Durch Besprengen mittels Zerstäubers wurde feucht erhalten. Hier ist aber Vorsicht streng geboten, da am Boden der Gefäße sich ansammelnde Nässe und überhaupt ein Uebermaß derselben den Versuch leicht verdirbt (Bakterienfäulnis). Unter richtigen Verhältnissen bleibt der Versuch sauber und ohne Störung.

1. Versuch mit 20 gesunden und 12 trockenfaulen (übergeschichteten) Knollen des vorhergehenden Jahres. Dauer vom 10. Mai bis 21. Juni. Verlauf ziemlich negativ, da bis zu diesem Datum nur ein gesundes Exemplar angesteckt war (typische Trockenfäule mit *Fusarium* polstern). Die übrigen gesunden Knollen ganz intakt, treibend und reichlich Wurzeln entwickelnd. Der weitere Verfolg führte allerdings schließlich (nach Wochen und Monaten) zum Eingehen aller gesunden Exemplare (Fäulnis durch *Fusarium* und Bakterien), das wäre aber wohl unter solchen Umständen auch ohne Zuthun kranker Knollen erfolgt.

2. Versuch. 15 trockenfaule werden unter sonst ganz gleichen Verhältnissen (im selben Raume, gleichem Tage) mit 7 gesunden gemengt und in einem kleineren Gefäß bei Lichtabschluß aufbewahrt. Hier verlief der Versuch ganz anders. Die gesunden bedeckten sich allmählich mit aus der prallen Schale hervorbrechenden ansehnlichen Pilzpolstern (*Fusarium*), so daß nach kaum 4 Wochen 6 Exemplare im Erkrankten begriffen waren und reichlich Conidienpolster aufwiesen, Treiben der Knollen blieb aus. Eine Knolle blieb gesund.

3. Versuch. Wiederholung des zweiten Versuchs mit 10 gesunden jungen (diesjährigen) und 10 trockenfaulen, gleichfalls bei Lichtabschluß (verschlossener Schrank) am 25. Juni 1896, sonst wie

vorher. Der Erfolg war hier noch schlagender. Schon nach einer Woche ist eine gesunde Knolle mit mehreren *Fusarium* polstern besetzt und nach Verlauf einer zweiten Woche ist die Erscheinung bei 5 Exemplaren zu konstatieren (Detail cf. Versuchszusammenstellung), so daß also nur noch 5 unverändert sind und in der nächsten Zeit, wo die Zersetzung jener weiterging, auch unverändert blieben.

Die angesteckten Knollen sind unterhalb der Polster auf einige Millimeter braun verfärbt, fest (also nicht bakteriell erweicht, angefault), zeigen septierte Hyphen, aber keine Bakterien; die Bräunung setzt sich dann unter der Schale fort, um langsam nach dem noch gesunden Innern vorzudringen. Sonstige Pilzvegetationen fehlen.

Daraus ergibt sich hinlänglich, daß *Fusarium* jedenfalls unter gewissen Verhältnissen auch die ursprüngliche Korkschale in irgend einer Weise durchdringen kann. Bei Wechsellagerung mit kranken können also auch gesunde Knollen durch jene angesteckt werden, wofür wohl in der Hauptsache die feuchtgehaltene Korkschale und feuchtigkeitsreiche Atmosphäre entscheidend ist. Daß es nicht regelmäßig geschieht (wenigstens in kürzerer Zeit) sagt nichts dagegen aus; Lichtabschluß wirkt dem Anschein nach begünstigend — eine falls sie weiterhin bestätigt werden sollte, sehr bemerkenswerte Tatsache; vielleicht auch die Temperatur und minderes Alter.

5. Versuchsreihe. Spontanes Auftreten des Pilzes auf verletzten Knollen (Taf. I, Fig. 1—6, 9—10).

Das verbreitete Auftreten von *Fusarium* überall auf irgendwie erkrankten Knollen ist bekannt. Man hat das bislang dadurch erklärt, daß der sehr gemeine Pilz jederzeit das aus anderen Gründen abgestorbene Gewebe befällt und weiter zersetzt. Natürlich trifft das oft zu, ist im übrigen aber weit davon entfernt, allgemeingiltig oder gar eine harmlose Tatsache zu sein, denn in allen solchen Fällen genügt das *Fusarium* auftreten zu einer baldigen definitiven Vernichtung der Knolle und zwar als der hier allein wirkenden Ursache. Das vorhergehende „Vergiften“ der Knolle durch *Phytophthora* ist ein Mythos, ebenso das notwendige Vorhandensein von Bakterien. Natürlich disponiert aber gerade eine verletzte oder partiell abgestorbene besonders leicht zur *Fusarium* fäule, deren Keime selten fehlen. Diese Tatsache sollte nun durch weitere Versuche noch erhärtet werden.

Die Versuchsanordnung hatte dabei sowohl den Einfluß feuchter wie trockner Lagerung zu berücksichtigen. Im übrigen wären hier manche der Resultate meiner *Phytophthora*-Ansteckungsversuche heranzuziehen, indem dort in vielen Fällen schon die ungetrübte *Fusarium* fäule zum Vorschein kam. Nichts anderes haben ja auch die früheren Versuchsansteller (Speerschneider, Hoffmann, von Holle u. a.) erwiesen und genau genommen ist die Tatsache längst bekannt, wenn auch meist irrig gedeutet. Die Zusammenziehung von *Phytophthora* mit *Fusarium* zu einer einzigen Art (Speerschneider) illustriert das in geeigneter Weise. Nachdem eingangs die Pathogenität des Pilzes zumal für unverletzte Knollen gezeigt ist, erfahren aber alle diese früheren Versuche eine

andere Deutung; sie sagen nichts aus für *Phytophthora*, bringen aber Material für die *Fusarium*fäule.

Aus den Versuchen ziehen wir aber von vornherein hier den Schluß, daß nicht Nässe, sondern gerade ein relativ trockener Zustand der Knolle dem Eintritt und Verlauf einer reinen *Fusarium*fäule günstig ist; Nässe disponiert für gleichzeitiges Eintreten „wirklicher“ Fäulnis (bakteriell mit *Fusarium*begleitung), was durch das Gegenteil sicher ausgeschlossen wird, ohne daß damit dem Hyphenpilz ungünstigere Bedingungen erwachsen.

a) Nasse oder relativ feuchte Lagerung der unverletzten oder verletzten Knollen.

Wiederholungen zu vermeiden, sei bezüglich der Einzelheiten in Versuchsanstellung etc. auf den Schluß, sowie den Abschnitt über die Bakterienfäule verwiesen. Es seien hier nur einige wenige Fälle aufgeführt.

Von 10 Knollen (6 alte, 4 „neue“), leicht durch durch Einreißen der Schale verletzt im Glase feucht erhalten, wiesen nach 2—3 Wochen 5 reichlich *Fusarium*polster (neben Fäulnis) auf; 5 waren bis dahin gesund geblieben (21. Juni bis 12. Juli 1896).

Von 6 krank gemachten Knollen („neue“ Kartoffeln) zeigten nach 2—3 Wochen 4 Exemplare starke Entwicklung von *Fusarium*polstern (21. Juni bis 12. Juli 1896).

Zwei von vier durch Nässe krank gemachten und wieder trocken gelegten Knollen („alte“ Knollen) zeigten nach 4—5 Wochen typische *Fusarium*fäule (1. Juni bis 3. Juli 1896).

Man kann den Pilz überhaupt so gut wie regelmäßig erscheinen lassen, wenn man Knollen durch Nässe zunächst krank macht (anfaulend) und darauf trocken legt. In ungefähr der Hälfte der Fälle tritt derselbe dann bereits nach wenigen Wochen auf, um nunmehr gewöhnlich die Vernichtung allein weiterzuführen. Jedenfalls fehlt er nicht, wenn im übrigen auch noch anderes (*Spicaria* etc.) hinzukommen kann. Sobald er auf toten Gewebsteilen der Knolle einmal zur Entwicklung kommen kann, findet er keine Schwierigkeiten mehr.

b) Wir sehen ihn dementsprechend auch fast allgemein auf Knollen auftreten, von denen einzelne Teile abgestorben sind, und es genügt hier darauf hinzuweisen, daß „braunfleckige“ Knollen sehr verbreitet seiner Zersetzung unterliegen. Es reicht dazu aus, die Knollen an freier Luft oder in einer offenen Schale liegen zu lassen (Fig. 9—10). Gleicherweise sieht man ihn mehrfach im Herbst nach beendeter Ernte die auf dem Felde zurückgelassen kranken Exemplare mit seinen charakteristischen Polstern besetzen und die Zerstörung vollenden. Hier haben wir also ein spontanes Auftreten und Umsichgreifen bei relativer Trockenheit.

Am bemerkenswertesten ist sein Erscheinen auf angeschnittenen gesunden Knollen, die an freier trockener Luft liegen, sobald man dieselben nur mit einer Papierumwicklung ausgestattet hat, nachdem das abgeschnittene Stück wieder aufgesetzt ist. Hier ist also ein Minimum von totem Gewebe und Feuchtigkeit. Es dauert bisweilen zwar etwas lange (Wochen bis Monate), aber gewöhnlich benutzt er die Gelegenheit doch, um noch zu einer erfolgreichen Thätigkeit zu ge-



langen, und die Exemplare schließlich total trockenfaul zu machen. Es ist in der That vor ihm keine Knolle sicher, die nicht ganz „vorschriftsmäßig“ in Stand ist; eine geradezu auffällige Vorliebe für diese besondere Kost, die ganz an die der Penicillien und Mucorineen für reifes Obst erinnert. —

Auf die hier mitgeteilten Versuchsreihen hätte als logische Weiterentwicklung noch eine 6. zu folgen. Hier war in exakter Weise zu zeigen, welchen Einfluß etwa das Tränken der peripheren Korkschale mit flüssigen Nährstoffen (Zuckerlösung, Glycerin) auf deren Resistenz gegenüber dem Eindringen der Pilzfäden hat<sup>1)</sup>, die dieserhalb denn auch auf feuchten nährstoffgetränkten Watterpfropfen in Reinkultur herangezogen wurden. Das oben erwähnte traurige Ereignis brach diese Versuchsreihe mitten in ihrem Gange ab.

Bevor wir das Bisherige zu einer Uebersicht zusammenfassen, ist noch kurz auf die mikroskopische Seite der Versuche einzugehen.

Der gegen das lebende Gewebe der Knolle fortschreitende Pilz bräunt dasselbe und der Nachweis seiner Hyphen ist eine der leichtesten Aufgaben. Die Hyphen töten die Zellen. Dazu ist keine direkte Berührung notwendig, also werden wir wohl Ausscheidungsprodukte im weitesten Sinne für diese Wirkung verantwortlich machen. Dahin gehören somit auch die notwendig vorhandenen Stoffwechselprodukte, also die Stoffe, welche durch Umformung des Zellsaftes der Knolle im pilzlichen Stoffwechsel als „Exkrete“ wieder abgeschieden werden. In dieser Beziehung ist die Feststellung lehrreich, daß pilzdurchsetzte Gewebsteile lebhaft alkalische Reaktion haben, während der Saft sonst deutlich lackmusrötend reagiert<sup>2)</sup>. Diese Reaktionsänderung an sich würde voraussichtlich schon zum Abtöten der Zellen genügen.

Die Braunfärbung der toten Zellen (Wand und Plasma) resultiert offenbar durch Aufnahme des bezüglichen Farbstoffes aus dem zersetzten Saft, der ja ohnedies schon Neigung zur Bräunung hat. Im letzten Stadium der pilzdurchsetzten Knolle verschwindet sie wieder (Taf. I, Fig. 6) ganz oder teilweise (fleckiges bzw. marmoriertes Aussehen) als notwendige Folge der besonderen Wirkung des Pilzes, Wand wie Plasma schließlich größtenteils aufzulösen; nunmehr tritt wieder die helle Farbe der nicht den Farbstoff aufnehmenden freiliegenden Stärke hervor. Diese wird in keiner Weise verändert, die Stärkekörner bleiben auch, wo Hyphen die Zellen reichlich durchsetzen, ganz intakt (Taf. II, Fig. 4); in Hinblick auf die Thatsache der Wandresorption ist das fast auffällig, in beiden Fällen ist die konstituierende Materie ein Kohlenhydrat bzw. Gemenge solcher. Vielleicht liegt in der Wandsubstanz der Knolle noch etwas Besonderes vor.

Folgt man dem Wege der Pilzfäden, so sind ihre letzten Aus-

1) cf. die Versuche von Pfeffer und Myioshi.

2) Die Acidität des Kartoffelsaftes ist nicht unbedeutend. So giebt Maercker (Handbuch der Spiritusfabrikation, 2. Aufl. p. 67) dafür bis 0,5 ccm N. N. an (nach Heinzelmann). Durch Versehr der Kohlenhydrate und Zersetzung von Eiweiß muß die saure Reaktion notwendig abgestumpft werden.

läufer an der Grenze des verfärbten Gewebes zu finden; dasselbe ist allseitig von einer schmalen Zone absterbender Zellen umgeben, in der die erste Wirkung der Hyphen als geweblockend zu Tage tritt (weich, wässerig) und in welche einzelne Hyphen bereits vordringen (Taf. II, Fig. 2). Hier finden wir also zunächst eine Verbandslösung (Maceration), die aber kurz darauf bereits wieder durch die verbindende (verflechtende) Wirkung der Hyphen (Fig. 3) aufgehoben wird: Braunes trockenfaules Gewebe ist zäh und muß zerpulft werden; alle Zellen sind hier von zahllosen Fäden um- und durchwachsen. Brüchige Konsistenz erhält es erst wieder gegen das schon vorher charakterisierte Ende der Zersetzung, wo in der Hauptsache nur noch Stärkekörner und schließlich eintrocknende Pilzhypen vorhanden sind (Fig. 4 der Taf. II). Lösen und Wiederherstellen des Verbandes folgen rasch aufeinander, der gänzliche Zerfall verläuft dann langsamer, kann natürlich auch aufgehalten werden. Aus Schnittflächen durch braunes Gewebe wächst der Pilz stets ohne weiteres in schneeigen Rasen hervor.

Zunächst umwachsen die Fäden die Zellen also nur, aber schon bald beginnt ein sehr ergiebiges Durchwachsen unter selten scharf nachweisbarer Resorption sehr engumschriebener Wandpartieen. Die Thatsache ist aber unmittelbar auch aus der deutlich wahrnehmbaren Erscheinung des Umwachsens der innerhalb der Zellen liegenden Stärkekörner zu folgern (Fig. 3, Taf. II). Hierbei werden die Stärkekörner in keinem Falle irgendwie verändert (korrodiert), selbst wenn sie dicht von Hyphen umflochten werden; wenn solches einmal bei unreinen Zersetzungsprozessen stattfindet, so sind dafür andere Pilzspecies entscheidend.

Nachdem allmählich Wände und Plasmabestandteile resorbiert sind, resultiert schließlich ein dichtes Gemenge von Stärke und Pilzhypen (Fig. 4); mit zunehmendem Austrocknen beginnen dann die Fäden zu zerfallen und das Plasma dickerer Hyphen formt sich mehrfach zu gemmenartigen, stark lichtbrechenden Gebilden, deren Keimfähigkeit noch darzuthun, wenn schon kaum zu bezweifeln ist; in zarteren Fäden bleiben zunächst noch Kügelchen als Rückstand, die man denn auch frei in derartigen Präparaten mehrfach antrifft.

Zur Ausbildung von Conidien und sogen. „Macrosporen“ kommt es innerhalb des Gewebes nie; dieselben entstehen ausschließlich auf der Oberfläche der Knolle oder von inneren Höhlungen, wie solche als Folge der Zersetzung mehrfach da auftreten, wo feuchtere Atmosphäre stärkerem Schrumpfen vorbeugt. Bei ungestörter Verdunstung fällt das absterbende Gewebe gewöhnlich nach Maßgabe des fortschreitenden Zerfalles zu einer dünnen, später brüchigen Masse zusammen.

Von dem inneren Hyphengeflechte lassen sich unschwer Reinkulturen des Pilzes ableiten, die reichlich beide Sporenformen des Pilzes ergeben<sup>1)</sup>. Etwaige Zweifel an der spezifischen Natur der sterilen Hyphen werden dadurch gleichzeitig widerlegt.

1) Schlauchfrüchte kamen in den Kulturen nicht zur Entwicklung, so daß ich auch die dementsprechende Benennung der Pilze (*Hypomyces Solani* Reinke und Berthold) nicht anwende.

Das kulturelle Verhalten des Pilzes soll in einer weiteren Mitteilung berührt werden, hier genügt die Angabe, daß auch diese Versuche größtenteils schon von Herrn A. Borchers abgeschlossen waren. Ich hebe nur hervor, daß Dimensionen<sup>1)</sup> wie Septen der Hyphen nach Feststellung in Reinkultur außerordentlich variieren, indem der Durchmesser älterer bis auf fast das 10-fache der jüngeren steigen kann, so daß man zunächst zwei verschiedene Pilze vor sich zu haben glaubt (Fig. 10, Taf. II). Die Querwände andererseits können so sehr zurücktreten, daß an langen, zumal jungen Fadenstücken nur vereinzelte mühsam (durch Färbung) nachweisbar sind (Fig. 6, Taf. II).

Der Pilz ist hinreichend oft abgebildet worden (Schacht, de Bary, Reinke und Berthold u. A.), so daß die Figuren der Tafel sich vorwiegend auf noch nicht reproduzierte Dinge (Fortschritt der Hypheninfektion, Sporenbildung und -Keimung beziehen. In Fig. 5 ist überdies ein Bild des *Fusarium* auftretens neben Bakterien (in einer wirklich „faulen“ Knolle) wiedergegeben; es zeigt die Leichtigkeit des Nachweises dieser. Solche Knollen sind übrigens hinlänglich durch den Geruch ausgezeichnet; rein *Fusarium*-kranke sind geruchlos oder bei etwas feuchterer Lagerung von kartoffelartigem Geruch, die Zersetzung ist eben keine „Fäulnis“ und man spräche richtiger von *Fusarium*-„Krankheit“ oder „Zersetzung“ statt von der hier aus anderen Gründen vielleicht vorzuziehenden *Fusarium*-„Fäule“.

### Resumé.

Aus den Versuchen ergab sich Folgendes:

1) Der Pilz vermag nachweisbar gesunde Knollen von Wunden oder Schnittflächen aus leicht anzugreifen. Er bewirkt so gut wie regelmäßig dann eine totale Zerstörung der Knolle unter dem charakteristischen Bilde der „Trockenfäule“, d. h. einer relativ trockenen, bakterienfreien Zersetzung. Der Vorgang verläuft langsam, aber un-  
gemein sicher, ohne durch Korkbildung behindert zu werden. Selten ist das Resultat negativ. Andere Pilze (*Fusarium moschatum* und *Spicaria Solani*) waren unter gleichen Verhältnissen wirkungslos.

2) Trockenfaules Gewebe in Schnittwunden gesunder Knollen übertragen, steckt diese gleichfalls an und bewirkt dieselben Erscheinungen.

3) Unter gewissen Umständen findet eine direkte Ansteckung vorher gesunder unverletzter Knollen durch die sie berührenden Conidienpolster trockenfauler statt.

4) Der Pilz tritt auf krank gemachten oder verletzten Knollen sehr verbreitet spontan auf, und vernichtet dann die etwaigenfalls nur geringfügig beschädigte Knolle total. Das geht auch in relativ trockener Luft vor sich, und ihm erliegen derartige Knollen sowohl

1) Hyphendicke gewöhnlich 3–4  $\mu$ , Grenzen von 1,5–10  $\mu$ ; Conidien 30–45  $\times$  5–5,5  $\mu$ , nach wiederholten Messungen von A. Borchers. Die Werte für Conidien weichen bei Saccardo etwas ab (Sylloge. T. IV. p. 81), zumal die Dicke, da die Länge ohnedies sehr variabel ist. Ganz junge Conidien sind überhaupt weit kürzer und sarter (5  $\times$  3 bis 18  $\times$  3,5  $\mu$ ) sowie gestaltlich abweichend (Fig. 6, Taf. II).

auf dem Acker wie an den Aufbewahrungsorten während des Winters.

5) Bei allen diesen Vorgängen kommt die Mitwirkung von Bakterien oder anderer Organismen nicht in Frage. Als störende Begleiterscheinung können sie aber hinzukommen, sobald ihnen zumal Wärme und Nässe oder doch reichliche Feuchtigkeit Vorschub leisten, denn das an sich bereits zur „Fäulnis“ neigende abgetötete Gewebe wird durch die besondere Wirkung des Pilzes (Reaktionsänderung) dafür noch empfänglicher.

6) Im einzelnen ist die Wirkung des *Fusarium* immer dieselbe. Die gegen das lebende Gewebe zunächst intercellular und den Zellverband lösend vordringenden Hyphen töten die braun werdenden Zellen ab, umwachsen und durchdringen sie (makroskopische Bräunung des Gewebes); weiterhin findet Lösung der meisten Gewebs-teile statt (Wiederaufhellen). Als Rückstand bleiben in den zersetzten (von der geschrumpften, oft Conidienpolster-tragenden Schale noch bedeckten) Knollen nur Stärke (und Gewebsreste) neben zahllosen sie dicht durchsetzenden Hyphen. Das erst zunderig-weiche Knollengewebe wird wieder dürr und schließlich hart, wenigstens im Falle die Knollen an der Luft liegen. Bei andauernd feuchter Lagerung bleibt letzteres aus und es kommt da gewöhnlich noch zu allerhand nebensächlichen Zersetzungen durch andere Organismen (Bakterien). Ausliegen der Knollen an freier Luft thut dem Fortschritt des *Fusarium* keinen Abbruch.

Es ist nach allem offenbar gerade dieser Pilz, dem die Mehrzahl der irgendwie beschädigten Kartoffelknollen zur Beute fällt, mit ihm rivalisieren nur noch die wärme- und nasseliebenden Spaltpilze. Bei den früheren „berühmt“ gewordenen Erkrankungen hat er zumal auch in den Kellern unstreitig eine erhebliche Rolle gespielt, tritt aber auch jetzt noch gelegentlich in größerem Umfange auf.

Hannover, Technisch-chem. Laboratorium  
der Techn. Hochschule, 1897.

### Versuchseinzelheiten.

#### I. Uebertragungsversuche mit *Fusarium Solani* Sacc.

1) Impfung dreier gesunder „Eierkartoffeln“ mit Hyphengewebe aus einer trockenfaulen Kartoffel (9. Dezbr. 1895). Einlegen in eine große feuchte Kammer auf Glasbank (wo nicht anders bemerkt, gilt das auch für die weiteren Versuche).

Vonder Impfstelle aus Schrumpfen der Schale schon nach einigen Tagen; weiterhin lebhafter Fortschritt und Hervorbrechen von *Fusarium*-polstern (Fig. 7—8, Taf. I). Einige Wochen später haben die Exemplare das Aussehen der Ursprungskartoffel. Der Durchschnitt einer derselben ergibt starke Bräunung des hyphen-durchsetzten lockeren Gewebes (kein Kork) und Fehlen jeglicher Bakterien (Fig. 1—3, Taf. II). Aus inneren Gewebestücken werden Rein-

kulturen von *Fusarium* abgeleitet.

2) Impfung einer gesunden Kartoffel mit dem sterilen Mycel (aus Zuckernährlösung). 7. Jan. 1896.

Bis zum 21. Jan. mäßiges Wachstum; am 5. Febr. durchgeschnitten zeigte sich das Gewebe nach innen vorspringend gebräunt und von Hyphen durchsetzt (kein Kork); die Uebergangszone zum gesunden Gewebe ist schon leicht erweicht und zeigt sich mikroskopisch stark von Hyphen durchwachsen. Bakterien fehlen. Auf der Schnittfläche entsteht binnen 24 Stunden ein anfangs weißer, dann bläulicher wolliger Rasen von *Fusarium*.

3) Gesunde Exemplare werden in der großen feuchten Kammer zwischen trockenfaulen gelegt und täglich besprengt. 14. Jan.

Bis zum 18. Febr. hat keine Uebertragung des Pilzes stattgefunden. Die Versuchsexemplare sind noch alle gesund, unverändert.

4) Wiederholung des Versuches No. 3. 22. Jan.

Am 22. Febr. gleichfalls noch ohne Resultat.

5) Impfung einer gesunden Knolle mit Sporen. 22. Jan.

Am 13. März merklicher Einfall der Impfstelle und weiterhin Erkrankung in der charakt. Weise.

6) Wiederholung von No. 5 mit einer anderen Sorte (große Eckkartoffel). 22. Jan.

Am 3. Febr. beginnende Erkrankung und weiterhin Fortschreiten.

7) Impfung eines gesunden Exemplars mit Reinkultur. 29. Jan.

Am 11. Febr. Einfallen der Impfstelle (mikroskopisch: mit Sporen von *Fusarium* dicht angefüllt). Weiterhin totale Trockenfäule.

8) Desgl. mit Gewebstück aus einer trockenfaulen Knolle. 29. Jan.

Bis 24. Febr. merklicher Fortschritt. Am 4. März war das Exemplar zu  $\frac{3}{4}$  trockenfaul.

9) Reichliche Sporenaussaat auf die Schnittflächen zweier halbierter Exemplare. 30. Jan.

Am 6. Febr. Bräunung des Gewebes unterhalb der Korklage und reichlich Hyphen. Am 19. Febr. sind beide Exemplare völlig zerstört.

10) Impfung einer Knolle (neue Kartoffel; Afrikaner) mit einer Reinkultur. 5. Febr.

Bis 21. Febr. ohne Resultat.

11) Desgl. mit Gewebestück eines trockenfaulen Exemplars. 5. Febr.

Ebenso.

12) Impfung zweier Exemplare (alte Kartoffeln) mit Gewebestücken (je 3) aus einer trockenfaulen. 27. Febr.

Zunächst ohne merkliche Aenderung. Nach 2—3 Wochen beginnt überall das Gewebe in Berührung mit den trockenfaulen Dreiecken einzufallen und einige Wochen später sind die Exemplare total trockenfaul.

13) Impfung von 3 Exemplaren teils mit Reinkultur, teils mit krankem Gewebe, auf breiter Schnittfläche in Impfwunde. 18. Febr.

Bis 24. März langsame Entwicklung, beginnende Trockenfäule unter der Schnittfläche, die mit Korkschale versehen ist.

14) Desgl. von 4 Exemplaren (junge Maltakartoffeln). 18. Febr.

Bis 24. Febr. keine Veränderung.

15) 4 Exemplare (Maltakartoffeln) mit braunem, trockenfaulen Gewebe geimpft (bei 3—8° C aufgestellt). 21. Febr.

Am 9. März alle 4 Exemplare im Verfall; 18. März: stark erkrankt (keine Korkbildung), die Wände gebräunt und stark von Hyphen durchsetzt.

16) 2 Exemplare (1 Malta, 1 alte Kartoffel) angeschnitten und das Stück nach Impfung mit Hyphen wieder aufgesetzt (3—8° C). 25. Febr.

Am 25. März zeigen beide beginnende Trockenfäule, weiterhin langsamer Zerfall.

17) 4 Exemplare (3 alte, 1 Maltakartoffel) wie in No. 16 infiziert. 5. März.

Am 16. März Bräunung auf der Impfstelle; am 25. März sind nur die 3 alten Kartoffeln angegangen und werden trockenfaul.

18) 5 Exemplare (rote Kartoffeln) nach Abwaschung mit Sublimatlösung mit Reinkultur geimpft (teils unter Korkschale, teils mittels Einschnittes, teils nach Durchschneiden und Wiederausammenlegen. 12. März.

Am 23. März ist bei 4 Exemplaren beginnende Trockenfäule zu konstatieren; eine versagt. Weiterhin führt die Erkrankung zur völligen Zersetzung durch *Fusarium*.

## II. Impfungen mit *Fusarium moschatum* und *Spicaria Solani*.

19) 2 Exemplare mit *Fusarium moschatum* durch Einbringen des Pilzmaterials in Impfstich infiziert. 19. Dezbr.

Am 8. Jan. noch resultatlos. Die Wunde ist ganz verwachsen (vegetationslos). Auch die weiteren Wochen unverändert.

20) 2 weitere Knollen (1 rote, 1 Eßkartoffel) wie in No. 19 mit Sporen von dem gleichen Pilz. 22. Jan.

Bis zum 21. Febr. resultatlos, ebenso weiterhin. Knollen unverändert.

21) 2 halbe Knollen mit Sporen von *Spicaria* geimpft. 23. Jan.

22) Junge Kartoffel (Afrikaner) 3 mal mit den Sporen von *Spicaria* geimpft. 6. Febr.

23) Wiederholung von No. 22. 7. Febr.

24) Impfung einer gesunden Knolle mit Reinkultur von *Spicaria* (von Gelatineplatte). 18. Febr.

25) 5 Knollen mit Reinkultur von *Spicaria* geimpft. 26. Febr. (Einbringen in vorher gemachten Einstich).

Ebenso erfolglos (bis 21. Febr. bzw. 1. März).

Am 14. Febr. waren kleine helle Polster der *Spicaria* auf der Wundfläche vorhanden; ohne daß der Pilz jedoch in die gesund bleibende Knolle eingedrungen war. Am 21. Febr. hatte sich der Befund nicht geändert.

Resultatlos (21. Febr.).

Resultatlos. Knolle blieb unverändert.

Am 2. März ohne Aenderung. Am 12. März ebenso. Befeuchtung mit Wasser und Zerstechen der Korkschicht an der infizierten Stelle ergaben bis zum 16. und 28. März wiederum keinen Eintritt von Pilzhypen in das Gewebe.

### III. Ansteckung gesunder durch kranke Knollen und spontanes Auftreten des Pilzes auf verletzten.

26) 20 gesunde unverletzte Knollen werden in einem weiten Glase (mit Deckel) mit 12 gänzlich trockenfaulen bedeckt. Beide kamen direkt aus dem Kellerraum. Aufstellung des Versuches an der Hinterwand eines mittelhellen Wohnraumes. Reichliche Feuchtigkeit schlägt sich dauernd an der Gefäßwand nieder und durchtränkt auch die kranken. (10. Mai bis 21. Juni.)

27) Derselbe Versuch im dunklen Raume (Dunkelschrank) in demselben Zimmer. 7 gesunde Exemplare der gleichen Sorte zwischen 15 *Fusarium* faule gelegt. Beide gleicher Herkunft und in allem ganz übereinstimmend mit Versuch 26. (10. Mai bis 21. Juni.)

Am 21. Juni waren die gesunden Exemplare (mit Ausnahme eines einzigen eine kranke Stelle aufweisenden) noch völlig unverändert und prall. Sämtliche haben ausgetrieben (kurse Sprosse, reichverzweigte gesunde Wurzeln). Ansteckung blieb also trotz der sehr günstigen Bedingungen aus.

Bei Abschluss des Versuches zeigten die kranken Exemplare noch lebhaft vegetierende *Fusarium* polster (Sporenbildung), die weiche zunderig-breiige Innenmasse mit Bakterien neben Hyphen.

Am 21. Juni waren von den 7 gesunden Exemplaren 6 mit die Schale durchbrechenden matten Pilzpolstern (2—3 mm im Durchmesser) bedeckt; bald zahlreicher, bald mehr vereinzelt.

Kein einziges Exemplar war ausgetrieben, dagegen die Schale an einigen etwas gewelkt (runzelig).

Die Conidienpolster erwiesen sich mikroskopisch als reine *Fusarium*-vegetation (Sporen!) und nahmen nach Herausnahme aus dem feuchten Behälter helle Farbe an. Hyphen sind unterhalb der Schale in braunen Flecken nachzuweisen; beim Zerschneiden verfärbt sich das Gewebe mehrfach ins Rötliche.

Andere Pilzvegetationen fehlen. —

Die eingelegten faulen Exemplare ganz wie in No. 26.

28) 10 gesunde „neue“ Kartoffeln zwischen 10 kranken (mit *Fusarium* bedeckten) in bedecktem Glase ins Dunkle gestellt. Oberfläche dauernd feucht gehalten. (25. Juni bis 12. Juli).

Am 3. Juli ist eine Knolle mit mehreren schleimigen *Fusarium*-polstern bedeckt; am 5. Juli Fortschritt der Polster über  $\frac{1}{3}$  der Oberfläche. Ausgang derselben von einer kleinen Faulstelle. Die Knolle ist sonst noch normal und hart.

Alle übrigen sind unverändert. Am 12. Juli sind bereits 5 Exemplare dicht mit Polstern bedeckt (schleimig, oberflächlich weiß); davon 4 überall, 1 an vereinzelt Stellen. 2 Knollen gleichzeitig partiell erweicht (nassfaul), 3 ganz fest.

5 Exemplare sind unverändert.

29) 9 neue Kartoffeln je an einer Stelle leicht verwundet (durch mäßiges Klopfen, Drücken etc.) und mit 4 toten (*Fusarium*-besetzten) aus Keller in Berührung (bedecktes Glas). Feuchthalten durch Bestäuben. (21. Juni bis 12. Juli.)

Am 26. Juni sind 3 von den Wunden aus erkrankt (Pilzpolster um Wunde). 1. Juli starker Fortschritt (gleichzeitig tritt Nafsfäule hinzu). 5. Juli: Vier Exemplare sind reichlich mit wässrigen *Fusarium*-polstern besetzt (zu  $\frac{1}{3}$  bis total) und teilweise nassfaul.

Die Erkrankung hat somit rasch um sich gegriffen.

12. Juli: 5 total verfault (weich) und ganz mit Schimmelpolstern bedeckt (daneben *Mucor*). Die übrigen unverändert.

30) 6 alte und 4 „neue“ Kartoffeln leicht verletzt (durch Klopfen an einer bzw. 2 Stellen), unter gelegentlichem Lösen der Schale durch Einreissen. In be-

Am 26. Juni sind die oben liegenden (trocken) gesund. Drei untere erkranken (Nafsfäule neben *Fusarium*); eine andere zeigt nur Pilzpolster (3 alte treiben aus).



decktem Glase aufbewahrt und nur die unteren mäsig feucht gehalten (Papierbedeckung). (21. Juni bis 12. Juli).

31) 6 „neue“ Kartoffeln<sup>1)</sup> mit leichten braunen Flecken in bedecktem Glase zur Beobachtung hingestellt. Reichliches Feuchthalten der Oberfläche durch Sprengen. (Lichtabschluß). (21. Juni bis 12. Juli.)

5. Juli: Die 3 unteren total erkrankt mit umfangreichen Fusariumpolstern (nicht nafesaul). Ein Exemplar mit 16 kleinen sich ausbreitenden Fusariumpolstern um die eingetrocknete Wundstelle, sonst ganz fest und scheinbar gesund. Die übrigen unverändert.

12. Juli: 3 total faul (Bakt. und Pilzpolster) eine allein mit großen leuchtenden Pilzpolstern, die im Fortschreiten begriffen. 5 ganz gesund (obenliegend). Die alten Knollen treiben aus.

26. Juni: 2 Exemplare mit faulen Stellen (Pilzpolster); überdies Hyphen von Rhizoctonia auf den Knollen.

3. Juli: 4 sind gesund, doch haben sich die braunen Flecke vergrößert. 2 sind total krank und reichlich mit hervorbrechenden Fusarium bedeckt (innen faul).

12. Juli: Gesund ist noch eine. 4 sind erweicht (faul) und mit Pilzpolstern bedeckt (2 partiell 2 total) 1 zeigt braune Flecke im Erweichen begriffen.

#### Tafelerklärung.

##### Tafel X.

Fusarium-Fäule spontan erkrankter sowie durch Berührung oder Impfung angesteckter Knollen. Auf  $\frac{3}{4}$ — $\frac{1}{2}$  verkleinert. Einzelheiten im Text.

Fig. 1—3. Spontane Fäule in verschiedenen Stadien drei verschiedener Knollensorten. Krankheit im Beginn (Fig. 1), stark fortgeschritten (Fig. 2), total trockenfaule Knolle (Fig. 3) an einer „neuen“ Kartoffel, Winterkartoffel (aus dem Keller) und einer großen schlesischen Futterkartoffel.

Fig. 4—6. Durchschnitte von 3 Knollen in ähnlichen Stadien wie zuvor (teilweise gebräunt, total braun mit Höhlungen, marmoriert).

Fig. 7—8. Durch Impfung erzeugte Fäule im Fortschritt. An der Impfstelle erscheinen zuerst Konidienpolster (das obere Exemplar abgeschnitten).

Fig. 9—10. Spontane Fäule „braunfleckiger“ Knollen auf den aus dem Acker genommenen harten Knollen beim Liegen an freier Luft aufgetreten (Nienfeld 1896).

Fig. 11—13. Durch Ansteckung seitens kranker an gesunden sie berührenden Knollen in feuchter Luft aufgetretene Fäule.

Fig. 14—16. Impf fäule. Durchschnitte durch drei Knollen, die einige Wochen zuvor mittels Nadel in verschiedener Weise geimpft wurden. *i* = Impfwunde, *s* = Schnittfläche. Die abgetöteten Partien sind gebräunt, Fusariumfäden bis an die Grenze des hellen gesunden (*g*) Gewebes. Im erkrankten Gewebe fehlen auch die charakteristischen Höhlungen (*h*) nicht. *t* = Triebe bzw. Wurzeln.

1) Eine genaue Sortenbezeichnung war, zumal bei käuflichem Material, nicht immer möglich.

1.



2.



3.



4.



5.



6.



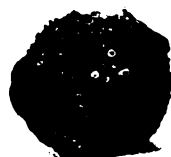
7.



9.



10.



8.



12.



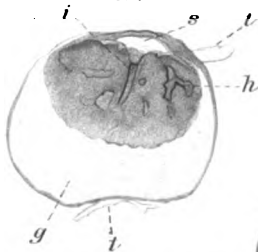
13.



11.



15.



16.



14.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Fusariumfäule der Kartoffel.

University of California Library Medical Department







## Tafel XI.

Fig. 1—4. *Fusarium*krankes Knollengewebe in den verschiedenen Stadien. Fig. 1—2 = Hyphen auf der Grenzzone gegen das noch gesunde Gewebe. Zerfall der Zellen. Fig. 1 = Schnittpräparat aus gehärtetem Alkoholmaterial. Fig. 2. Frisches Präparat aus der erweichenden Grenzzone (1. Stadium). Fig. 3. Aus dem toten braunen Gewebe (2. Stadium). Fig. 4. Aus dem grauen Stärkerest (3. Stadium); intakte Stärkekörner überall von Hyphen umzogen. Alle Präparate aus durch Impfung angesteckten Knollen.

Fig. 5. Präparat aus einer bakterienhaltigen Knolle (Fäulnis).

Fig. 6—11. *Fusarium*präparate aus Reinkulturen.

Fig. 6 und 7. Junge Conidien zum Teil noch (wie auch die Hyphen) ganz ohne Septenbildung.

Fig. 8. Reife Conidien mit 2—3 Septen (Normalfall).

Fig. 9. Drei keimende Conidien (A. Borchers).

Fig. 10. Hyphen sehr variabler Dimensionen; die dickeren alten meist leer mit gemmenartig kontrahiertem Plasma (von einer Decke auf Zuckerlösung).

Fig. 11. Terminale und intercalare Gemmenbildung (sogen. „Macrosporen“), ebendaher.

Vergrößerung von Fig. 1 u. 6—11 = ungefähr 500; Fig. 2—5 entsprechend geringer. Ocul. 3, Objekt. 7 und 9 des Altmann'schen Bakterienmikroskops sowie Seibert, Ocul. 2 und 3, Objekt. 5.

Nachdruck verboten.

## Untersuchungen über den Wurzelschimmel der Reben.

Von

Dr. J. Behrens.

(Schluß.)

Ueber die Ergebnisse der Behandlung mit Kupfervitriol resp. Kupferkalkmischung berichtet Müller-Thurgau<sup>1)</sup>. In kalkreichem Boden soll man beim Setzen der Reben oder beim Vergruben die Erde an der Pflanzstelle reichlich begießen mit einer 3-proz. Lösung von Kupfervitriol, in kalkarmen Böden mit einer Kupferkalkmischung, die auf 100 l Wasser 3 kg Kupfervitriol und 3 kg Kalk enthält. Mindestens soll man 5 l pro Stock verwenden, eine größere Gabe wird nur um so wirksamer sein. Das Verfahren hat an einigen Orten zu guten Erfolgen geführt, an anderen war man indessen weniger befriedigt. In allen Fällen muß man aber auch — und darauf legt Müller-Thurgau das Hauptgewicht — alles zu beseitigen suchen, was das Auftreten des Wurzelschimmels fördert, also vor allem für genügenden Wasserabzug sorgen sowie für eine kräftige Ernährung. Die Versuche mit Kaliumsulfokarbonat wurden mir nahe gelegt einmal durch die Ergebnisse, welche Viala mit dieser Substanz gehabt hat, und nach denen dieselbe ganz unwirksam ist, dann aber und im Zusammenhange damit auch durch die günstigen Erfahrungen, welche Foëx mit einer Schwefelkohlenstoffbehandlung kranker Rebberge gehabt hat<sup>2)</sup>. Diese ließen mir eine Wiederholung der Versuche Viala's als

1) Müller-Thurgau, Behandlung des Wurzelschimmels an Reben. (Schweiz. Zeitschr. f. Obst- u. Weinbau. Bd. IV. 1895. p. 368. — Weinbau u. Weinhandel. Bd. XIII. 1896. p. 43.)

2) Foëx, Les terrains punais des vignobles des côtes du Rhone. Essais tentés pour les purifier. (Revue de viticulture. Tome I. 1894. p. 38—41.)

wünschenswert erscheinen. Der Boden des Rebbergs, in dem Foëx seine Versuche anstellte, ruht auf einem Granitkem und wies drei vom Wurzelschimmel verseuchte Fehlstellen auf, in denen die Reben ausgerodet wurden. Eine der Fehlstellen blieb unbehandelt, die zweite erhielt pro Quadratmeter 70 g Schwefelkohlenstoff, die dritte erhielt ebenso viel Schwefelkohlenstoff in Form einer Emulsion in Wasser (7 g CS<sub>2</sub>, 10 Liter). Alle drei Fehlstellen litten an stauender Nässe im Untergrunde, wo sich das Wasser in Vertiefungen des Granits ansammelte. 15 Tage nach der Behandlung, die am 6. April vorgenommen wurde, wurden alle drei Fehlstellen mit Reben der alten Sorte bepflanzt, die auf amerikanische Unterlagen veredelt waren. Am 25. November wurde der Bestand wieder untersucht. Jede Rebe, die etwas zweifelhaft aussah, wurde herausgenommen und auf das Vorhandensein des Wurzelschimmels geprüft. Dabei stellte sich heraus, daß auf der unbehandelten Kontrollparzelle schon wieder mehrere Rebstöcke von dem Mycel der *Dematophora* überzogen waren, während auf den beiden mit Schwefelkohlenstoff behandelten Parzellen keine Spur des Pilzes zu finden war.

Es bleibt noch das Fluornatrium übrig, dessen Anwendung als Fungicid in einem exakten Versuche einer gewissen Begründung und vielleicht Rechtfertigung bedarf. Ich habe dasselbe nicht etwa gewählt, weil ich ihm in dieser Beziehung irgendwelche Wirksamkeit zugetraut hätte. Ich stehe den Fungiciden als Bekämpfungsmittel von Pflanzenkrankheiten von vornherein überhaupt sehr skeptisch gegenüber und war gerade bei dem Fluorsalz von seiner Unwirksamkeit überzeugt und habe es in die Versuchsreihe, in die es sich ohne weitere Mühe und Störung einfügen ließ, nur deshalb aufgenommen, um gegenüber darüber geäußerten irrigen Anschauungen von vornherein den Unwert der Fluorverbindungen festzustellen. Von der so vorteilhaften Verwendung der Fluorverbindungen in der Spiritusindustrie ausgehend, glaubt nämlich die Société Générale de Maltose in Brüssel einen Fortschritt der Technik in der Weise anbahnen zu können, daß, wenn man den Acker schon mit geringen Mengen von Fluorsalzen düngen würde, das Getreide Fluor in genügender Menge aus dem Boden aufnehmen würde, so daß bei nachfolgender Verwendung in der Brennerei die damit hergestellte Maische, ebenso wie die direkt mit Fluorverbindungen versetzte, weniger der Buttersäuregärung und anderen schädlichen Nebengärungen ausgesetzt, und auch das Schimmeln des Malzes auf der Malztenne ausgeschlossen sein würde. Auf diese eigentümliche, übrigens auch durch die Erfahrung noch keineswegs bestätigte Meinung gestützt, glaubte vor einigen Jahren jemand in einem nur mit A. S. gezeichneten Artikel zur Prüfung der Fluorsalze mit Rücksicht auf die Bekämpfung pflanzlicher Schädlinge der Rebe auffordern zu sollen<sup>1)</sup>.

Die Versuche wurden in folgender Weise eingeleitet. Es wurde zunächst ein größeres Quantum einer Nährlösung bereitet, welche, in kalkreichem Leitungswasser gelöst, im Liter enthielt:

1) A. S., Vorschläge zu einem Versuche der Bekämpfung pflanzlicher Rebenschädlinge. (Weinbau und Weinhandel. Bd. X. 1892. p. 397.)

100 g Rohrzucker,  
 20 g Ammonnitrat,  
 10 g Citronensäure,  
 10 g phosphorsaures Kali,  
 5 g Magnesiumsulfat.

Von der klaren Lösung wurden je 50 ccm in 28 Erlenmeyer-Kolben von 300 ccm Inhalt abpipettiert, und in 8 davon, welche für die Versuche mit Kaliumsulfokarbonat bestimmt waren, die Säure durch Zusatz von kohlensaurem Kalk abgestumpft. Von den übrigen 20 Kolben dienten je 7 zur Prüfung des Eisenvitriols und des Kupfervitriols, 5 zu der des Fluorsalzes, während ein Kolben ohne Zusatz blieb. Von den „Pilzgiften“ wurden 1- sowie 10-proz. Lösungen bereitet bis auf das Fluornatrium, von dem nur eine 1-proz. Lösung hergestellt wurde. Durch Zusatz der berechneten Menge Lösung wurden dann in den Kulturkolben für alle 3 Fungicide folgende Konzentrationen hergestellt: 1:100 000, 1:10 000, 1:5000, 1:1000, 1:500; nur Eisen- und Kupfervitriol wurden auch in Lösungen 1:200 und 1:100 geprüft. Nach dem Zusatz wurden die 20 Kolben sterilisiert.

Bei dem Versuch mit Kaliumsulfokarbonat mußte etwas anders verfahren werden. Abgesehen davon, daß natürlich eine Neutralisation der Säure mit Kalk nötig war, stellte sich bei einem Versuche heraus, daß besonders die verdünnten Lösungen des Sulfokarbonats sich beim Sterilisieren vollkommen zersetzten. Deshalb wurde sowohl die 1- sowie 10-proz. Kaliumsulfokarbonatlösung zuerst für sich sterilisiert, ebenso wie die 8 Kolben mit Nährlösung; dann wurden nach geschehener Einimpfung des Pilzes mit sterilisierten Pipetten die berechneten Mengen der sterilen Giftlösung zugefügt, so daß die oben schon mitgeteilten Konzentrationen erreicht wurden. Ein Kolben blieb natürlich ohne Zusatz.

Die Impfung aller 28 Kolben geschah am 17. Dezember mit Mycelflocken aus einer Reinkultur der *Pseudodematophora* auf zerkleinertem Rebholz. Bei den höheren Konzentrationen ( $\text{CuSO}_4$  1:100;  $\text{FeSO}_4$  1:500, 1:200, 1:100;  $\text{NaFl}$  1:1000, 1:500) wurden teilweise auch vom Mycel überzogene und durchwachsene Holzstückchen verwendet. Auf das Ergebnis des Versuches blieb dieser Umstand ohne Einfluß.

Die Größe des Giftzusatzes erhellt aus folgender Tabelle, die den Versuchsplan kurz und übersichtlich darstellt.

Konzentration des Giftes	I. Kupfervitriol	II Eisenvitriol	III. Fluornatrium	IV. Kaliumsulfokarbonat
0	0			0
1:100 000	0,05 ccm 1 % Lösung	0,05 ccm 1 % Lösung	0,05 ccm 1 % Lösung	0,05 ccm 1 % Lösung
1:10 000	0,5 " " " "	0,5 " " " "	0,5 " " " "	0,5 " " " "
1:5000	1,0 " " " "	1,0 " " " "	1,0 " " " "	1,0 " " " "
1:1000	0,5 " 10 " "	0,5 " 10 " "	5,0 " " " "	0,5 " 10 " "
1:500	1,0 " " " "	1,0 " " " "	10,0 " " " "	1,0 " " " "
1:200	2,5 " " " "	2,5 " " " "		2,5 " " " "
1:100	5,0 " " " "	5,0 " " " "		5,0 " " " "



Die gewählte Art des Zusatzes der Gifte hatte natürlich zur Folge, daß die gewünschten Konzentrationen in einzelnen Fällen nur annähernd erreicht sind. Das macht indes für den erstrebten Zweck der Versuche nichts aus. Wichtiger ist, daß die Gelbfärbung in der mit Sulfokarbonat versetzten Versuchsreihe nur in den höheren Konzentrationen sich über die erste Stunde erhielt. Bei der Konzentration von 1:200 hielt sie ca. einen, bei der Konzentration 1:100 ca. 3 Tage vor, worauf sie auch hier verschwand.

Das Gesamtergebnis der ganzen Versuchsserie, die bis zum 14. Mai fortgesetzt wurde, besteht darin, daß der Desinfektionswert aller 4 Stoffe in den gewählten Verdünnungen außerordentlich gering ist. Schon nach 4 Tagen war deutliches Wachstum außer in den nicht vergifteten beiden Kolben zu erkennen in den niederen Konzentrationen aller 4 Reihen 1:100 000, 1:10 000. Noch kein Wachstum war sichtbar

beim Kupfervitriol in den Konzentrationen 1:100, 1:200, 1:500 (Wachstum zweifelhaft);

„ Eisenvitriol „ „ „ 1:100, 1:200;  
 „ Fluornatrium „ „ „ 1:500, 1:1000, 1:5000;  
 „ Kaliumsulfokarbonat in der Konzentration 1:100, 1:200.

Deutlich ließ sich überall erkennen, daß mit zunehmender Konzentration des Pilzgiftes die neugebildete Pilzmasse immer geringer war.

Noch deutlicher war das am 4. Januar zu sehen. Kein Wachstum zeigten noch immer die Kolben der Reihen.

Kupfervitriol 1:100, 1:200;  
 Eisenvitriol 1:100;  
 Fluornatrium 1:500, 1:1000;  
 Kaliumsulfokarbonat 1:100, 1:200.

Auf Kupfervitriol 1:100 000, 1:10 000, 1:5000, auf Eisenvitriol 1:100 000 bis 1:500, auf Fluornatrium 1:100 000 und auf Kaliumsulfokarbonat 1:100 000 bis 1:500 war eine dichte Pilzdecke von blendend weißer Farbe gebildet.

Am 1. Februar war es noch ähnlich. Die Konzentration Kupfervitriol 1:1000 trägt jetzt eine Decke; in 1:200 ist schwaches, aber deutliches Wachstum der eingesäten Mycelflocke eingetreten. Fluornatrium 1:10000 trägt eine dicke Decke. Am 1. März ist die Kupfervitriollösung 1:500 dicht von Mycel erfüllt; die Eisenvitriollösungen tragen bis auf die steril gebliebene Konzentration 1:100 dicke Decken. Deckenbildung ist auch auf Fluornatrium 1:5000 und 1:500 eingetreten, wogegen 1:1000 steril geblieben ist. Auf Kaliumsulfokarbonat 1:200 beginnt die Bildung der Decke.

Die letztere ist natürlich am Schlusse des Versuches am 14. Mai ebenso üppig wie auf den verdünnteren Lösungen. In Kupfervitriollösung 1:200 schwimmen am Boden äußerst zahlreiche kleine Mycelflöckchen, und über der Flüssigkeit kriecht das Mycel des Pilzes an der Glaswand des Kolbens. Die mikroskopische Untersuchung der Flöckchen zeigt, daß dieselben aus lebenden Pilzfäden bestehen, reich mit Inhaltsmasse (Fetttröpfen?) erfüllt. An ihnen und von ihnen umschlossen, sind zahlreiche, dem bloßen Auge schon auffallende, unter dem Mikroskop farblose Krystalldrüsen, beim Druck in wetz-

steinförmige Krystalle oder Trümmer zerfallend. In Ammoniak lösen sie sich unter Blaufärbung, bestehen also aus einer Kupferverbindung. Die Flüssigkeit ist während der Versuchsdauer auf 35 ccm eingedunstet. In der Kupfervitriollösung 1:100, die auf 34 ccm eingedunstet ist, führen die eingesäte Mycelflocke, deren Vergrößerung nicht beobachtet war, sowie ihre sonst in der Flüssigkeit herum schwimmenden Teilstücke noch viel mehr von dem Krystallsand. In Nährlösung übergeführt, entwickelt sich die Mycelflocke nicht weiter; sie war also tot, und es muß dahingestellt bleiben, ob die Bildung der Krystalle hier auf Diffusion von Stoffen aus dem toten Mycel oder auf eine früher eingetretene, wenn auch schwache Lebens-thätigkeit des Pilzes zurückzuführen ist, der erst durch eine mit der Verdunstung sich einstellende höhere Konzentration des Giftes getötet ist. Die Bildung der Krystalle im Kolben 1:200, in dem der Pilz sicher noch lebte<sup>1)</sup>, spricht für die letztere Alternative.

Wie der Uebertragungsversuch lehrte, war außer in der Kupfervitriollösung 1:100 auch in der Eisenvitriol- und der Kaliumsulfokarbonatlösung gleicher Konzentration der Pilz getötet. Daß das Nichtgedeihen des Pilzes in der Fluornatriumlösung 1:1000 nur auf einem Zufall beruht, wird schlagend durch sein Gedeihen in der doppelt so starken Lösung bewiesen. Jedenfalls ist an eine Verwendung der untersuchten Pilzgifte als direkte Gegenmittel gegen Wurzelschimmel unter den Verhältnissen der Praxis nicht zu denken.

Ehe ich dazu übergehe, kurz die trotzdem mit einem Teil der Mittel ( $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$ ) erzielten Erfolge zu besprechen, möchte ich meine Versuche mit Schwefelkohlenstoff noch erwähnen. Benutzt wurden dazu die auf den drei schwächsten Eisenvitriollösungen der vorigen Versuchsreihe gebildeten *Dematophora* massen, und zwar wurde am 16. Mai in den ersten Kolben mittels der Pipette etwas Schwefelkohlenstoff derart gebracht, daß derselbe, ohne den Pilzrasen zu berühren, sofort in der Flüssigkeit untersank und am Boden derselben in mehreren Tropfen sichtbar war. Im 2. Kolben wurde der Pilzrasen mit Schwefelkohlenstoff direkt benetzt, und im 3. wurde der Wattestopfen mit Schwefelkohlenstoff getränkt. Alle 3 Kolben wurden gleich nach dem Beschießen mit Glaskappen bedeckt, um die Verflüchtigung und das Entweichen des Schwefelkohlenstoffs etwas zu beschränken. In Kolben I konnte das Gift nur in wässriger Lösung wirken, die sehr schwach ist (ca. 2 g in 1 l Wasser). In den beiden anderen Kolben wirkten Schwefelkohlenstoffdämpfe.

Nach 24-, sowie nach 72-stündiger Einwirkung des Schwefelkohlenstoffs werden Mycelstücke aus jedem der 3 Kolben in neue Nährlösung von der oben mitgeteilten Zusammensetzung gebracht. Beidemale erweist sich nur der Pilz in Kolben I noch als lebendig, obgleich gerade dieser noch nach 3 Tagen nach Schwefelkohlenstoff riecht, und Tropfen des letzteren am Boden liegen. In Kolben II und III dagegen, die nach 3 Tagen schon nicht mehr nach Schwefelkohlenstoff riechen, ist der Pilz zu Grunde gegangen, und zwar schon nach 24 Stunden. Durch einen weiteren Versuch mit ganz frisch

1) Er entwickelte sich, in kupferfreie Nährlösung übertragen, aufs üppigste.

angesetzten Kulturen wurde die giftige Wirkung der Schwefelkohlenstoffdämpfe bestätigt. Im Kolben I waren solche ja natürlich auch vorhanden, aber sicherlich stets in viel verdünnterem Zustande als in den beiden anderen Kolben. Leider war es nicht möglich, die zur Giftwirkung nötige Konzentration des Dampfes näher zu bestimmen. Jedenfalls geht aber aus diesen Versuchen hervor, daß man der desinfizierenden Wirkung des Schwefelkohlenstoffs im Boden keinesfalls großes Vertrauen entgegenbringen darf. Ich sehe in meinen Versuchen eine Stütze für die schon früher<sup>1)</sup> geäußerte Ansicht, daß der günstige Einfluß des Schwefelkohlenstoffs in den Versuchen von Foëx wohl in anderer Weise zu erklären ist, als durch Desinfektion des Bodens.

Aus den praktischen Erfahrungen von Oberlin<sup>2)</sup> und den schönen Untersuchungen A. Koch's<sup>3)</sup> wissen wir, daß die Schwefelkohlenstoffbehandlung des Bodens das Gedeihen der Kulturpflanzen auf demselben außerordentlich befördert, und Koch hat bewiesen, daß dabei nicht die Desinfektionswirkung des Schwefelkohlenstoffs, sondern eine andere Eigenschaft desselben als Ursache in Betracht kommt, wahrscheinlich eine ja auch bei minimalen Gaben der verschiedensten anderen Gifte wahrgenommene stimulierende Wirkung desselben auf das Wachstum. Nun haben wir aber im Wurzelschimmel sowohl nach meinen Erfahrungen als auch insbesondere nach allen Beobachtungen in der Praxis einen Schädling vor uns, der nur solche Reben befällt, die schon infolge der ungünstigen Standortverhältnisse (Bodennässe) schwer leidend sind. Auf jeden Fall gehört der Wurzelschimmel zu den ausgeprägtesten sog. Schwächeparasiten, bei denen die Nährpflanze durch einen bestehenden Krankheits- oder Schwächezustand zum Befallenwerden prädisponiert sein muß. Wird dieser Zustand durch irgendwelche Mittel gehoben, so kann auch der Wurzelschimmel allein nicht mehr schaden. Das günstige Resultat in den Versuchen von Foëx erklärt sich also schon ohne die Annahme, daß der Wurzelschimmel durch die Schwefelkohlenstoffgabe getötet sei, einfach durch die Kräftigung der Reben, welche die Schwefelkohlenstoffbehandlung zur Folge haben mußte, und welche ihrerseits zur Folge hatte, daß der Pilz sie nicht wieder anzugreifen vermochte, solange die Kräftigung andauerte.

Ebenso bin ich in Rücksicht auf die mitgeteilten Desinfektionsversuche geneigt, die günstige Wirkung der Eisenvitriol-, sowie der Kupfervitriolbehandlung auf die dadurch herbeigeführte Kräftigung der Rebe zurückzuführen. Der Eisenvitriol wirkt ja einmal direkt düngend, ferner aber, was noch wichtiger ist, indirekt wie alle Sulfate, speziell der Gyps, der sich sicherlich auch bei dieser Düngung

1) Wochenblatt des landw. Vereins im Großherzogtum Baden. 1896. p. 262.

2) Ch. Oberlin, Bodenmüdigkeit und Schwefelkohlenstoff mit besonderer Berücksichtigung der Rebenverjüngung ohne Brache oder ohne Zwischenkultur. Mainz 1894.

3) A. Koch, Zur Frage der Rebenmüdigkeit der Weinberge. Vortrag, gehalten auf dem 13. deutschen Weinbau-Kongreß zu Mainz 1894. (Weinbau und Weinhandel. Bd. XII. 1894. p. 564 f.) — A. Koch, Weitere Erfahrungen über die Schwefelkohlenstoffbehandlung der Weinbergsböden. Vortrag, gehalten auf dem 14. deutschen Weinbau-Kongreß zu Neustadt a. d. H., 1895. (Weinbau und Weinhandel. Bd. XIV. 1896. p. 110 f. und 120 f.)

durch Umsetzung des Eisensalzes mit dem im Boden vorhandenen Kalk bildet. Die letztere Wirkung darf wohl auch dem Kupfervitriol zugeschrieben werden, nachdem längst nachgewiesen ist, daß selbst größere Mengen Kupfer dem Boden ohne Schaden für die Pflanze zugesetzt werden können. Dazu kommen aber bei der Kupferbehandlung noch die anderen, weit wichtigeren Maßregeln, die Müller-Thurgau für unerläßlich zur Erzielung einer günstigen Wirkung erklärt, speziell die Entwässerung des Bodens. Diese möchte ich für den dauernd wirksamen Faktor halten.

Ich stehe also nicht an, einen Teil der Fehlstellen bei den badischen Reben, die man im allgemeinen ohne nähere Untersuchung als vom „Wurzelschimmel“ hervorgerufen ansieht, so gut wie ausschließlich auf ungünstige Bodenverhältnisse, Nässe im Untergrund, mangelhafte Ernährung u. dergl. zurückzuführen, den Mycelüberzug auf dem Rebholz, die Fäule der Wurzeln aber für eine sekundäre und erst in zweiter Linie am Absterben der Reben beteiligte Folgeerscheinung zu halten. Die Bekämpfung dieses unechten „Wurzelschimmels“ würde sich demgemäß auf die Beseitigung der Ursachen, auf die Besserung der Bodenbeschaffenheit durch Drainage, kräftige Düngung der Reben u. s. f. beschränken können. Erfahrungsgemäß empfiehlt sich an solchen Fehlstellen die Verwendung der sog. künstlichen Dünger an Stelle des Stallmistes, welch' letzterer vielleicht nicht nur die Feuchtigkeit stark aufsaugt und zurückhält, sondern auch dem Schimmel die Möglichkeit üppigen Gedeihens auch in der Zeit gewährt, wo er die Rebe nicht anzufallen vermag, bis wieder günstige Verhältnisse oder Jahre für ihn kommen. Auch könnten durch das Wachstum der Pilze im Stallmist die früher erwähnten sekundären Schädigungen (Verderben der Bodenluft durch Sauerstoffentzug und Anhäufung von Kohlensäure, Ausscheidung giftiger Stoffwechselprodukte u. dergl.) eintreten, was wenigstens nicht unmöglich sein würde, wenn ich auch persönlich wenig Gewicht auf diese Rettung des Parasitismus des „Pseudowurzelschimmels“ lege.

Ich denke, sobald ich Material mit der echten *Dematophora necatrix* R. Hartig in die Hand bekomme, die Untersuchungen von neuem aufzunehmen, und hoffe, daß mir dann die Reinkultur des Schädlings glücken wird. Als Resultat der mitgeteilten Beobachtungen betrachte ich neben dem wissenschaftlich wichtigen Nachweis des Celluloseenzymys die Feststellung der Thatsache, daß unter dem Namen „Wurzelschimmel“ wenigstens zwei verschiedene Krankheiten gehen, da in den von mir untersuchten 5 Fällen die *Dematophora necatrix* fehlte.

Zum Schluß sei noch bemerkt, daß meine *Pseudodematophora* sich technisch zur Verzuckerung von Cellulose nicht anwenden läßt. Unter gewöhnlichen Umständen wird ja der gebildete Zucker sofort verbraucht; als ich in Gärrflaschen den Pilz auf Filtrierpapier bis zu üppiger Rasenbildung wachsen ließ, dann aber Hefe (Forster Reinhefe 1893) zufügte und den Luftzutritt durch Beschicken des Gärverschlusses mit Schwefelsäure hinderte, trat doch keine Gärung ein. Als später 5 g Rohrzucker zu den 400 ccm Nährflüssigkeit zugefügt und dann wieder verschlossen wurde, trat allerdings ziemlich lebhaft

Gärung ein. Es wurden aber nur 2,4 g Kohlensäure gebildet, also die zugefügte Zuckermenge wurde vergoren, dann hörte die Gärung auf. Aber die *Pseudodematophora* wuchs selbst in dieser kohlenensäurereichen, sauerstoffarmen Atmosphäre noch deutlich, wenn auch schwach weiter und ist noch jetzt in Vegetation<sup>1)</sup>.

Karlsruhe, landw. bot. Versuchsanstalt, 2. August 1897.

## Referate.

**Jensen, Orla**, De vigtigste bakteriologiske og kemiske Kendsgarninger angaaende Ostens Modning, samt et nyt Forsøg paa dette Omraade. (Nyt Tidsskrift for Fysik og Kemi. 1897. 2. Hefte.)

Die Reifung der Käse besteht hauptsächlich aus zwei Prozessen, zuvörderst einer Gärung und danach einem neben derselben laufenden Trocknen. Der letztere reguliert teilweise den ersteren und wird darin in einem nicht unwesentlichen Grade vom Salzen unterstützt. Um eine Gärung vollständig zu studieren, muß dieselbe sowohl in chemischer als auch in bakteriologischer Beziehung gründlich untersucht werden.

Wenngleich die Gärung der Käse in chemischer Beziehung noch nicht erschöpfend erklärt ist, so sind doch die Hauptpunkte festgestellt. Aus den Untersuchungen von Duclaux, Weidmann, Benecke, Schulze und Bondzynski geht es deutlich hervor, daß die Gärung des Käses dadurch charakterisiert ist, daß der Käsestoff bis zu einem gewissen Grade löslich gemacht wird, teils als Proteinstoffe, und teils als weitergehende Zersetzungsprodukte.

Was dagegen die Gärung des Käses in bakteriologischer Beziehung betrifft, so wissen wir mit Sicherheit nur noch sehr wenig darüber.

Die Thatsache, daß die Gärung des Käses in der Hauptsache eine Peptonisierung ist, hat Duclaux auf den unzweifelhaft richtigen Gedanken geführt, daß die hierbei wirksamen Fermente solche sein müssen, die die Fähigkeit haben, den Käsestoff löslich zu machen.

Duclaux, Adametz und Weigmann haben deshalb ihre Aufmerksamkeit besonders auf solche Bakterien gerichtet, die in hohem Grade die Eiweißstoffe umzubilden vermögen, ohne jedoch eine vollständige Fäulnis hervorzurufen.

Diese Bakterien (die *Tyrothrix*arten und einige Formen von Buttersäurebakterien), die Weigmann mit der treffenden gemeinschaftlichen Benennung „der Caseasebakterien“ bezeichnet hat, weil sie, nach Duclaux, nicht direkt, sondern indirekt durch Ausscheiden eines peptonisierenden Enzymes „Casease“ wirken sollen, sind indessen, nach den Untersuchungen von v. Freudenreich, relativ sehr selten im Käse. Die meisten Bakterien sind hier Milchsäurefermente, zum

1) Nachträgl. Anm. Auch noch am 15. Nov.

Teil dieselben Arten, die für die spontane Gerinnung der Milch typisch sind, zum Teil solche Arten, die bis jetzt nur im Käse gefunden worden zu sein scheinen. Es ist daher schon deshalb wahrscheinlich, daß diese Milchsäurefermente eine bedeutende Rolle bei der Reifung des Käses spielen müssen. Wenn nun außerdem, wie es aus der letzten Arbeit von v. Freudenreich<sup>1)</sup> hervorgeht, diese Milchsäurefermente nicht allein die Fähigkeit besitzen, den Käsestoff löslich zu machen (wenn auch nicht in so hohem Maße als die Caseasebakterien), sondern denselben auch weiter zu zersetzen, darf man nicht länger bezweifeln, daß diese für den Käse typischen Milchsäurefermente, wenn sie auch nicht die einzigen Käsefermente sind, so doch, in jedem Falle in dem Emmenthalerkäse, die wichtigste Rolle spielen.

Welche Fermente es auch sind, welche die Käsereifung bedingen, so bleibt es doch immer wahrscheinlich, daß dieselben durch ein Enzym wirken, welches die Eigenschaft hat, selbst bei niedriger Temperatur peptonisieren zu können und in seiner Wirkungsweise dem Trypsin ähnlich ist. Zwischen der Gärung und der Nachgärung des Käses besteht nämlich in chemischer Beziehung keine scharfe Grenze, die Umbildung des Käsestoffes fährt immer fort auch nach Beendigung der Hauptgärung, zu einer Zeit, in welcher die Bakterien in bedeutendem Grade abzunehmen angefangen haben. Diese Erscheinung kann nur dadurch erklärt werden, daß die Bakterien während der Hauptgärung ein Enzym gebildet haben, welches die Peptonisierung fortsetzen kann, bis es selbst abgeschwächt ist. Wie bekannt, hat es oft seine großen Schwierigkeiten solche Enzyme nachzuweisen. Um deshalb wahrscheinlich zu machen, dass die Reifung des Käses hauptsächlich eine unechte Gärung ist, bin ich den umgekehrten Weg gegangen, indem ich versucht habe, ob man die Umbildung des Käsestoffes durch einen Zusatz von Trypsin bei Herstellung des Käses erhöhen könnte. Wenn nämlich ein fremdartiges Enzym, das Trypsin, das Vermögen hat, in Käse solche Umbildungen hervorzurufen, welche denen der natürlichen Reifung ähnlich sind, so ist es noch wahrscheinlicher, daß die im Käse vorkommenden spezifischen Enzyme, die ich nicht kenne, und deshalb nicht verwenden kann, ein ähnliches Vermögen haben.

Es ist gar nicht unmittelbar einleuchtend, daß das Trypsin unter den im Käse vorkommenden Verhältnissen wirken kann. Die Wassermenge und die Temperaturen könnten zu niedrig sein, die Säure- und Salzmenge könnten zu groß sein, und, was am schlimmsten wäre, die Bakterien könnten gleich das Enzym umbilden. Das Trypsin wurde als eine gewöhnliche wässrige Bauchspeichellösung verwendet (200 g Drüse pr. Liter), diese wurde sehr sorgfältig unter mehrmaligem Aetherzusatz hergestellt, um eine Bakterienentwicklung zu verhindern. Eine solche Lösung hält sich beinahe ungeschwächt ein Vierteljahr lang.

Vorläufige Versuche zeigten, daß 5 Proz. Kochsalz (die Maximalsalzmenge im Käse) die Wirkung des Trypsins erhöht, und bei einer

1) p. 231 und 349 dieser Zeitschrift.

Temperatur von 15–20 ° C (die gewöhnlichste Käsegärungstemperatur) wirkt das Enzym nur drei Mal langsamer als bei Bluttemperatur.

Kleine Versuchskäse wurden dann gemacht (jeder aus 4 l Magermilch), die eine Hälfte bekam einen reichlichen Zusatz von der Trypsinlösung (jeder Käse 20 ccm), die andere Hälfte bekam keinen Zusatz, sonst wurden sie auf genau dieselbe Weise hergestellt. Die Gärungstemperatur war durchschnittlich 15 ° C. Die Käse trockneten leider aus, bevor sie ganz reif waren. Die Analyse zeigte doch überall ein halb Mal mehr löslichen Stickstoff in den Versuchskäsen als in den Kontrollkäsen. Ein deutlicher Beweis dafür, daß das Trypsin das Vermögen hat, in Käse unter den natürlichen Verhältnissen peptonisieren zu können. Die nähere chemische Beschaffenheit der Umbildungsprodukte wird später erwähnt werden.

Diese Versuche wurden nicht allein mit Rücksicht auf das wissenschaftliche Interesse gemacht, sie hatten auch einen praktischen Zweck.

Segelcke hat schon lange (in seinen Vorlesungen auf der landwirtschaftlichen Hochschule in Kopenhagen) betont, daß je mehr peptonisiert ein Käse ist, desto fetter er scheint, die schmierigen, löslichen, stickstoffhaltigen Stoffe, welche bei der Reifung des Käses gebildet werden, kann nur die chemische Analyse von den Fettstoffen trennen, den Fingern und der Zunge erscheinen sie als Fett. Durch eine kräftige Peptonisierung kann man also in einem Käse die scheinbare Fettmenge erhöhen, ein Verhältnis, das selbstverständlich eine bedeutende Rolle bei der Fabrikation der Magermilchkäse spielt.

Es ist eine Thatsache, daß die Peptonisierung des Käses um so höher ist, je mehr Wasser er enthält. Es geht dies besonders deutlich hervor aus den Untersuchungen von Bondzynski. Vergleicht man die von ihm analysierten Fettkäse, so ergibt sich folgendes Resultat:

	Vom gesamten Stickstoffe: Proz. löslicher Stickstoff	In den Käsen: Proz. Wasser
Limburgerkäse	81,16	55,50
Camembertkäse	58,61	52,00
Roquefortkäse	48,37	36,05
Emmenthalerkäse	31,93	32,25

Die Untersuchungen von Storch<sup>1)</sup> haben deshalb stets gezeigt, dass die besten Magermilchkäse von einer bestimmten Art, welche am fettesten erscheinen, immer die wasserreichsten sind.

Aus diesem Grunde werden die Magermilchkäse während des VerkäSENS nie so hoch erwärmt wie die entsprechenden Vollmilchkäse, und aus diesem Grunde hat Fleischmann empfohlen, die Centrifugmilch für Backsteinkäse statt für Hartkäse zu verwenden.

Viele ziehen jedoch die Hartkäse den Weichkäsen vor, es wäre deshalb wünschbar, die Peptonisierung in einem Hartkäse zu erhöhen, ohne die Wassermenge dieses Käses in einem solchen Grade zu vermehren, daß der Käse seinen Charakter ganz und gar ändert. Diese Aufgabe habe ich vermittelst des Trypsins zu lösen versucht.

Im Großbetriebe habe ich eben wie bei meinen Laboratoriumsversuchen aus Centrifugmilch von den gleichen Kühen, die das

1) Ostning af Komälk. Ugeskrift for Landmänd. 1878.

gleiche Futter erhielten, kurz nacheinander ganz auf dieselbe Weise mehrere Hartkäse hergestellt, indem die Versuchskäse gerade vor dem Einfüllen in die Formen einen Zusatz der Bauchspeichellösung erhielten, die Kontrollkäse dagegen keinen. Jeder Käse wog frisch 12 kg.

Nach 4 Monaten wurden die Käse von mehreren Molkereikundigen beurteilt. Diese waren alle der Meinung, daß die Versuchskäse viel fetter als die Kontrollkäse erschienen. Ich analysierte demnächst vier meiner Käse: 1) den schlechtesten Kontrollkäse, 2) den besten Kontrollkäse, 3) einen Versuchskäse mit  $\frac{1}{4}$  l Bauchspeichellösung und 4) einen Versuchskäse mit  $\frac{1}{2}$  l davon. Die Resultate der Analysen gehen aus der nachfolgenden Tabelle hervor.

In den Käsen Proz.	1	2	3	4
Wasser	53,54	53,06	55,64	54,55
Fett	2,08	2,09	1,88	1,97
Kochsalz	2,14	3,35	3,56	3,66
Kochsalzfreie Asche	3,89	3,84	3,72	3,74
Stickstoffhaltige Substanzen	38,35	37,66	35,20	36,08
Stickstoff	5,73	5,66	5,32	5,41
Auf 100 Teile stickstoffhaltige Substanzen				
Fett	5,42	5,63	5,62	5,46
Von 100 Teilen des gesamten Stickstoffs sind in Lösung übergegangen				
Insgesamt	32,27	34,05	40,42	47,65
In Form von Proteinstoffen	12,69	14,62	20,63	25,13
In Form von ammoniakfreien Eiweißzer- setzungsprodukten	16,19	15,75	16,66	19,19
In Form von Ammoniak	3,69	3,68	3,13	3,33

Die Analysen zeigen, daß die Käse, was Fett, Wasser und Asche betrifft, so ähnlich sind, daß ein bedeutender Unterschied in der Zusammensetzung der stickstoffhaltigen Stoffe nicht zu erwarten war. Die bedeutende stärkere Peptonisierung in den Versuchskäsen kann deshalb nur der Wirkung des Trypsins zugeschrieben werden. Aus den Analysen geht hervor, daß die Peptonisierung um so stärker ist, je mehr Bauchspeichellösung verwendet wird, und daß diese Peptonisierung besonders die Menge der löslichen Proteinstoffe vermehrt, aber gar nicht die Ammoniakmenge, was beides den Nährwert des Käses günstig beeinflusst.

Die Bauchspeichellösung enthält leider andere Enzyme als Trypsin, und von diesen darf man nicht das fettspaltende Steapsin außer Betracht lassen. Ob dieses im Käse auch wirken kann, darüber giebt meine Analyse keine Antwort, denn schon in den Kontrollkäsen war beinahe alles Fett in freie Fettsäuren umgebildet. Doch wenn es sich später zeigen sollte, daß dieses bei sehr mageren Käsen gewöhnlich der Fall ist, so dürfte das Steapsin ja nicht schaden.

Die Aufgabe ist mittlerweile noch lange nicht gelöst. Eine Hauptsache wäre es zu untersuchen, wie es sich mit dem Geschmacke der



mit Bauchspeichellösung behandelten Käse verhält. Hierüber konnten die Käserichter kein Urteil geben, weil die Käse noch nach Aether schmeckten.

Neue Versuche mit einem besseren Bauchspeichelpreparat müssen erst gemacht werden, bevor man sich über die praktische Verwendbarkeit dieser Methode aussprechen kann.

Meine Bauchspeichellösung leidet noch an einem anderen Uebel, das meiste davon fließt nämlich während des Formens und des Pressens der Käse wieder weg. Besser wäre es daher, wenn man ein billiges Trockenpräparat (am liebsten reines Trypsinpräparat) fabrizieren könnte, eine Aufgabe, die nach den Erfahrungen, welche man bereits über das Labenzym hat, kaum unüberwindliche Hindernisse bieten dürfte.

Für die Bereitung des Trypsins hätte man nach meinen Berechnungen, in Dänemark jedenfalls, genug Rohstoff in den Bauchspeicheldrüsen des im Lande geschlachteten Viehes. (Autorreferat.)

**Frank,** Neuere Beobachtungen über die Blattfleckenkrankheit der Rüben (*Cercospora beticola*). (Zeitschr. des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. 1897. p. 589.)

Verf. hat die Beobachtung gemacht, daß diese Krankheit, welche sich dadurch charakterisiert, daß Flecken auf den Blättern entstehen, welche von einem dunkelroten Saum eingefast und in der Mitte von ziemlich grauer Farbe sind, im Vorjahre in ziemlich beträchtlicher Weise aufgetreten ist, während sonst diese Krankheit keinen bemerkenswerten Schaden verursacht. Im Vorjahre trat aber diese Krankheit mehrfach derart auf, daß die Blätter vollständig trocken und schwarz wurden, welche Erscheinung dem totalen Absterben derselben gleichkommt. Da der Blattverlust im Sommer eintrat und bis zum Herbst hin allmählich weiter auf die inzwischen neu gewachsenen Blätter überging, so ließen solche Rübenpflanzen auch deutlich ein Zurückbleiben in der Entwicklung erkennen. Auf jüngeren Blättern treten diese Flecken niemals auf und das Herz ist also bei dieser Krankheit ganz gesund. Es ist längst bekannt, daß diese Krankheit infektiöser Natur ist, nachdem ausnahmslos in jedem kranken Flecken ein Pilz wächst, der gegenwärtig als *Cercospora beticola* Sacc. bezeichnet wird. Die frühere Bezeichnung *Depazea beticola* D. C. ist unrichtig.

Da man imstande ist, künstlich die Blattfleckenkrankheit durch Infektion mit *Cercospora*-Konidien hervorzurufen, so ist dies ein weiterer Beweis dafür, daß der Pilz die Ursache der Krankheit ist. Es ist eigentümlich und dies hat dieser Pilz mit allen anderen ähnlichen Blattflecken erzeugenden Schmarotzerpilzen gemein, daß das Mycelium im Blatt sich nicht weit über die Infektionsstelle hinaus verbreitet, also auf einen kleinen Raum beschränkt bleibt, der eben zu einem kranken Blattfleck sich ausbildet. Zwischen jedem Flecken liegt das grüne Blattgewebe, welches vollständig gesund ist. Es rührt also jeder einzelne Blattfleck immer von einer besonderen Infektion her, und das Mycelium in jedem solchen Flecken ist ein

Pilzindividuum für sich. Es entsteht aber nun die Frage, wie der Pilz den Winter durchlebt und woher er im nächsten Jahre bei seinem Wiederauftreten in die Rübenschnitzläge kommt. Die *Cercospora* bewohnt nicht allein die Blätter, sondern auch andere oberirdische Teile der Rübenpflanzen und, was besonders wichtig ist, auch die Stengel der Samenträger, ja man findet nicht selten auch die Flecken auf den Samenknäueln. Es ist nun unzweifelhaft, daß auf solchen Rübensamen sich die *Cercospora*, sobald diese Samen trocken sind und trocken aufbewahrt werden, bis zum nächsten Jahre erhalten kann. Die Annahme, daß durch den Samen der Pilz und die Krankheit auf die neuen Rübenpflanzen übertragen werden kann, ist also schon hiernach sehr naheliegend, um so mehr als die auf den Rübensamenknäueln im Herbst entstandene *Cercospora* den Winter über ihre Entwicklungsfähigkeit behält bis zur Zeit, wo die Samen ausgesät werden, wobei dann in der Feuchtigkeit des Erdbodens das Auskeimen dieser *Cercospora* auf den Samen beginnt. Durch die Untersuchung des Verf.'s ist also die Zahl der auch den Samen bewohnenden und mit diesen übertragbaren Rübenpilzen wieder um einen, die *Cercospora beticola*, vermehrt worden. Als einen zweiten Weg der Uebertragung wird man aber auch die Ueberwinterung auf den Blättern der Samenrüben, wenn auf diesen der Pilz schon im Herbst entstanden ist, anzuerkennen haben, und an diese Möglichkeit wird also namentlich an jenen Orten zu denken sein, wo Samenrübenbau stattfindet.

Zur Bekämpfung dieser Krankheit wird es sich empfehlen, den Rübensamen zu beizen und zwar kurz vor der Bestellung, wozu sich die Kupfervitriolkalkbrühe sehr gut bewährt hat. Die Rübenknäule vertragen sehr gut ein ca. 24-stündiges Einlegen in eine 2—4-proz. Kupfervitriolkalkbrühe und wird dieselbe in folgender Weise hergestellt: 2 Gewichtsteile Kupfervitriol in 100 Teile warmen Wassers aufgelöst und dann mit einem aus 2 Gewichtsteilen Aetzkalk, nach Löschen desselben hergestelltem Kalkbrei versetzt und verrührt. Die aus der Beize genommenen Rübensamen sind mit Wasser abzuwaschen und dann durch Ausbreiten zu trocknen, da letzteres für das Drillen der Rübensamen wünschenswert ist.      Stift (Wien).

**Sajó, Carl**, Getreidekörner aussaugende Insekten. (Oesterreich. landwirtsch. Wochenbl. 1897. p. 339.)

Die Getreidesaaten sind den Angriffen einer Unzahl von Insekten ausgesetzt, die bei weitem nicht alle in ihrer wahren Bedeutung erkannt sind. Einige größere Hemipteren (Wanzen) können, wenn sie auch nicht häufig auftreten, doch einen bedeutenden Schaden verursachen, weil sie auf ganz verstohlene Weise den Saft der Getreidekörner, solange diese noch milchig sind, aussaugen und so ein Verkümmern der Körner, außerdem aber auch eine Verringerung ihres Inhaltes herbeiführen. Verf. beobachtete *Aelia pallida* Küst. und *Eurygaster maura* F. auf Roggen und *Mormidea* (*Carpocoris*) *fuscispina* Boh. auf Hafer. Während die beiden erstgenannten Insekten auch anderwärts schon als Schädlinge er-

kannt sind, wurde über die letztgenannte Art bisher Aehnliches noch nicht beobachtet. Stift (Wien).

## Neue Litteratur

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. ARTHUR WÜRZBURG,  
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

### Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Beck, M.**, Zur Züchtung anaërober Kulturen. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 12/13. p. 343—345.)
- Forster, J.**, Nährgelatine mit hohem Schmelzpunkte. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. 1897. No. 12/13. p. 341—343.)
- Müller, N. J. C.**, Neue Methoden der Bakterienforschung. (Aus: „Beitr. z. wiss. Botanik.“) I. Hälfte. gr. 8°. IV, 96 p. m. 20 lith. Taf. Stuttgart (Erwin Nägele) 1897. 30 M.
- Novy, F. G.**, Neue Apparate zum Filtrieren und zum Sterilisieren durch Dampf. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. I. Abt. Bd. XXII. No. 12/13. p. 337—340.)

### Systematik, Morphologie und Biologie.

- Behla, E.**, Die Amöben, insbesondere vom parasitären und kulturellen Standpunkt. Mit 1 lith. Taf. gr. 8°. VII, 73 p. Berlin (August Hirschwald) 1897. 2 M.
- Bericht über die wissenschaftlichen Leistungen in der Naturgeschichte der niederen Tiere. Begründet von R. Leuckart. Neue Folge. IX. Bd. Von C. Matzdorff, M. Meissner, A. Collin, v. Linstow, E. Vanhöffen, W. Weltner. gr. 8°. IV, 329 p. Berlin 1897.
- Conrad, E.**, Kurze geschichtliche Zusammenstellung der wichtigsten Gärungstheorien. (Pharmaz. Ztg. 1897. No. 83. p. 706—708.)
- Dangeard, P. A.**, Sur la production accidentelle d'une matière colorante rouge dans une culture de *Mucor racemosus*. (Botaniste. 1897. Fasc. 6. p. 318—319.)
- Féré, Ch.**, Accoutumance du blastoderme à un milieu toxique. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 22. p. 594—597.)
- Fischer, E.**, Observations sur les urédinées. (Arch. d. scienc. phys. et natur. 1896. p. 182—185.)
- Frentzel, J.**, Wandtafel der Kokken-, Bakterien-, Spirillen-Formen. 100×133,5 cm. Lith. Berlin (Paul Parey) 1897. 5 M.
- Huber, Les** saprophytes de la province de Para. (Arch. d. scienc. phys. et natur. 1896. p. 190—191.)
- Lindau, G.**, Ueber insektenbewohnende Pilze. (Entomol. Nachrichten. 1897. No. 10. p. 225—229.)
- Macchiati, L.**, Sulla biologia del bacillus Baccarini (B. vitivorus Bacc.). (Bullett. d. soc. botan. ital. 1897. No. 4. p. 156—163.)
- Mesnil, F. et Marchoux, E.**, Sur un sporozoaire nouveau (*Coelosporidium chydoricola* n. g. et n. sp.), intermédiaire entre les sarcosporidies et les Amoebidium Cienkowski. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 5. p. 323—326.)
- Meyer, A.**, Neues über die Morphologie der Bakterienzelle und die Entwicklungsgeschichte der Bakteriensporen. (Sitzber. d. Ges. z. Beförder. der ges. Naturwissensch. zu Marburg. 1897. No. 5. p. 49—56.)
- Miquel, P.**, Etude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée. (Suite.) (Annal. de microgr. 1897. No. 7/8. p. 302—325.)
- Morris, M.**, Studien über die Production von Schwefelwasserstoff, Indol und Mercaptan bei Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXX. 1897. Heft 4. p. 304—311.)

- Ray, J.**, Variations des champignons inférieurs sous l'influence du milieu. (Rev. génér. de botan. 1897. No. 102. p. 193—212.)
- Sappin-Trouffy**, Note sur la place du *Protomyces macrosporus* dans la classification (Botaniste. 1897. Fasc. 6. p. 285—288.)
- Scheffer, J. C. Th.**, Beiträge zur Frage der Differenzierung des *Bacillus aërogenes* und *Bacillus coli communis*. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXX. 1897. Heft 4. p. 291—308.)
- Schröter, C.**, Ein neuer Wirt für *Claviceps microcephala* Tulasne. (Jahresber. d. zürch. botan. Gesellsch. 1894/96. p. 8.)
- Thaxter, R.**, Contributions from the cryptogamic laboratory of Harvard University XL. New or peculiar zygomycetes. 2. *Syncephalastrum* and *Syncephalis*. (Botan. Gaz. Vol. XXIV. 1898. No. 1. p. 1—15.)
- Vrancken, J.**, Les levures de fond; leurs causes, leurs effets, moyens de les éviter. (Bulet. de l'assoc. d. anciens élèves de l'école de brasserie de Louvain. 1897. No. 4.)
- Walsingham and Durrant, J. H.**, The diamond — back moth: *Plutella cruciferaum*, Z. (1843), a synonym of *Cerostoma maculipennis*, Crt. (1832). (Entomologist's monthly magaz. 1897. Aug. p. 173—175.)
- Ward, H. B.**, Note on *taenia confusa*. (Zool. Anzeiger. 1897. No. 540. p. 321—322.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

### Luft und Wasser.

- Pastor, E.**, Ueber bakteriologische Untersuchung des Quellwassers. (Bolnitschn. gas. Botkina. 1897. No. 19, 20.) [Russisch.]
- Thornhill, H.**, Permanganate disinfection of village wells in epidemics of dysentery and diarrhoea. (Indian med. Gaz. 1897. No. 10. p. 379.)

### Boden.

- Miquel, P.**, Sur la longévité des germes des bactéries dans les poussières et dans le sol. (Annal. de microgr. 1897. No. 5. p. 199—207.)

## Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

### Fleisch.

- van Ermengem, E.**, Ueber einen neuen anaëroben *Bacillus* und seine Beziehungen zum Botulismus. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXVI. 1897. Heft 1. p. 1—56.)
- Fischhoeder, F.**, Leitfaden der praktischen Fleischbeschau einschließlich der Trichinenschau. 2. Aufl. 8°. XII, 240 p. m. 42 Abbildgn. Berlin (Richard Schoetz) 1897. 4,50 M.

### Milch, Molkerei.

- Boullanger, E.**, Action des levures de bière sur le lait. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1897. No. 9. p. 720—725.)
- Rabinowitsch, L.**, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XXVI. 1897. Heft 1. p. 90—111.)

### Wein, Weinbereitung.

- Bouchard, A.**, La vinification des vins blancs et des vins rouges en Maine-et-Loire. (Rev. de viticult. 1897. No. 186, 187, 189, 190. p. 39—44, 74—76, 125—128, 150—153.)

### Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Kelsch et Simonin**, Note sur le rôle pathogénique des poussières. (Bulet. de l'acad. de méd. 1897. No. 40. p. 260—278.)

## Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

### Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Aderhold, E.**, Zur Monilia-Epidemie der Kirschbäume. (Gartenflora. 1897. Heft 16. p. 429—433.)

- Anderson, J., Spot in Dendrobies. (Gardener's Chronicle. 1897. No. 558. p. 74.)  
 Auftreten und Bekämpfung von Rebenkrankheiten (mit Ausnahme der Reblaus) im Deutschen Reiche im Jahre 1896. gr. 4°. 20 p. Berlin (Reichsdruckerei) 1897.
- Barber, C. A., The diseases of the sugar-cane. II. (Science progress. N. S. Vol. I. 1897. No. 4. p. 460—482.)
- Bolley, H. L., The effectiveness of corrosive sublimate as a preventive of potato scab. (U. S. Departm. of agricult. Experim. stat. record. Vol. VIII. No. 9. Washington 1897.)
- , On the relation of the time of seeding and the period of development on the development of rust and smut of oats. (U. S. Departm. of agricult. Experim. stat. record. Vol. VIII. No. 9. Washington 1897.)
- Del Guercio, G., Intorno ad alcuni cecidii ed ai cecidiozoi della Santolina, dei „Dendrobium“ e delle Cattleie. (Ricerche e lavori d. R. Museo ed Orto botan. di Firenze. 1896/97. Fasc. 1. p. 77—85.)
- , Intorno ad una rassegna del Dott. Solla relativa ad una mia nota sull' alterazione prodotta dalla larva della Gracilaria simploniella Fisch. nella corteccia della Querce. (Bullett. d. soc. botan. ital. 1897. No. 4. p. 193—195.)
- Denkschrift, 19., betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1896. gr. 4°. 144 p. Mit Abbildg. Berlin (Reichsdruckerei) 1897.
- Dorner, F., To abate carnation rust. (Amer. Florist. 1897. No. 450. p. 555.)
- Eriksson, J., What species of grass are able to infect the barberry with rust? (U. S. Departm. of agricult. Experim. stat. record. Vol. VIII. No. 9. Washington 1897.)
- , Weitere Beobachtungen über die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes. (Ztschr. f. Pflansenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 4. p. 198—202.)
- Foster, L., On the prevention of smuts. (U. S. Departm. of agricult. Experim. stat. record. Vol. VIII. No. 7. Washington 1897.)
- Frank, Neuere Beobachtungen über die Blattfleckenkrankheit der Rüben (*Cercospora beticola*). (Ztschr. d. Vereins f. d. Rübensucker-Industrie d. Deutschen Reiches. 1896. Heft 497. p. 589—597.)
- , Bericht über Versuche zur Bekämpfung der Herz- und Trockensütle der Zuckerrüben im Jahre 1896. (Ztschr. d. Vereins f. d. Rübensucker-Industrie d. Deutschen Reiches. 1896. Heft 491. p. 901—928.)
- Frank, A. B., Kampfbuch gegen die Schädlinge unserer Feldfrüchte. Für praktische Landwirte bearb. Mit 46 Textabbildn. u. 20 Farbendr.-Taf. gr. 8°. VIII, 308 p. m. 20 Bl. Erklärgn. Berlin (Paul Parey) 1897. 16 M.
- Friend, H., Aster sickness and its cause. (Gardener's Chronicle. 1897. No. 555. p. 97.)
- Giard, A., Sur deux cochenilles nouvelles *Orthosiola fodiens* nov. spec. et *Rhizococcus Eloti* nov. spec., parasites des racines du Caféier à la Guadeloupe. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. No. 22. p. 583—585.)
- Gould, H. P., Fungoid as a preventive of potato rot. (U. S. Departm. of agricult. Experim. stat. record. Vol. VIII. No. 9. Washington 1897.)
- Hartig, E., Tötung der Bucheckern im Winterlager durch *Mucor mucedo*. (Forstl.-naturwissensch. Ztschr. 1897. Heft 9. p. 337—339.)
- Hennings, P., Eine neue Blattfleckenkrankheit (*Hemileia Woodii*) auf dem Ibo-Kaffee in Deutsch-Ostafrika. (Ztschr. f. tropische Landwirtsch. 1897. No. 8. p. 192—193.)
- Insects, injurious, and fungi: The branded or small brown fir beetle (*Pissodes notatus*). — The gypsy moth (*Portheia dispar*) in Massachusetts — „Curly“ of peach leaves. *Exosacus* (*Taphrina*) *deformans* — Remedies and methods of prevention. (Journ. of the Board of agricult. London 1897. p. 46—57.)
- Julien, Ch., Sur le développement du black rot de la vigne dans le Nivernais. (Bullet. de la soc. mycol. de France. T. XIII. 1897. Fasc. 2. p. 72—75.)
- Knoß, A., Fliegen als Schädlinge der Traubenbeeren. (Allg. Wein-Ztg. 1897. No. 40. p. 415.)
- Koningsberger, J. C., De dierlijke vijanden der koffiecultuur op Java. Deel I. 4°. 85 p. met 6 platen. Batavia's-Gravenhage 1897.
- Lavergne, G., Nouvelle bouillie contre le mildiou et le black. (Rev. de viticult. 1897. No. 184. p. 733—734. — Vigne franç. 1897. No. 13. p. 201—202.)
- Léger, L., Sur une nouvelle myxosporidie de la famille des Glugeidées. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 4. p. 260—262.)
- Leythäuser, Die Kiefernspanner-Kalamität im bayerischen Regierungsbezirke Mittelfranken 1892—1896. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1897. Heft 8. p. 453—467.)

- Lowe, V. H., The pistol-case bearer. (New York agricult. exper. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 122. p. 221—232.) 8°. Geneva, N. Y. 1897.
- Magnus, P., Uredo Goebeliana P. Magn. n. sp. auf *Parietaria* sp. bei Macuto in Venezuela, September 1890 lg. K. Goebel. (Flora. 1897. Ergänzungsband. Heft 2. p. 176—177.)
- Markham, H., Rose pest. (Gardener's Chronicle. 1897. No. 554. p. 84.)
- Mc Alpine, D. and Lowrie, W., Rust in wheat conference. (Agl. gaz. of N. S. Wales. 1896. No. 7. p. 438—443.)
- Mc Lachlan, E., *Harpalus ruficornis*, F., destructive to ripe strawberries. (Entomologist's monthly magaz. 1897. Aug. p. 171—172.)
- Mouillefert, P., Le rot gris ou mildiou des grappes dans les vignes de Seine-et-Oise. (Rev. de viticult. 1897. No. 190. p. 157—158.)
- Nott, C. P., Some parasitic florideae of the Californian coast. (Erythea. Vol. V. 1897. No. 7. p. 81—84.)
- Paddock, W., Spray pumps and spraying. (New York agricult. exper. stat. 1897. Popular edit. Bullet. 121. p. 197—219. Geneva, N. Y.)
- , Anthracnose of the black raspberry. (New York agricult. exper. stat. 1897. Bullet. 124. p. 261—274.)
- Peglion, V., Marciume radicale delle piante di tabacco, causato dalla *Thielavia basicola* Zopf. (Atti d. r. accad. dei Lincei. 1897. Fasc. 2. p. 52—56.)
- Petit de Forest, E., Le black-rot dans la Gironde. (Feuille vinicole de la Gironde.) (Vigne franç. 1897. No. 16. p. 242—243.)
- Pierre, La Mercuriale et ses galls. (Rev. scientif. du Bourbonnais. 1897. No. 114. p. 97—108.)
- Prunet, A., Sur les invasions de black rot. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 15. p. 550—553.)
- Quincy, Ch., Quelques mots sur trois parasites du grosseillier épineux. (Bullet. de la soc. d'histoire naturelle d'Autun. T. IX. 1897. p. 143—144.)
- Ravas, L., La maladie d'Oléron. (Rev. de viticult. 1897. No. 191. p. 186—187.)
- Rey, C., Sur le traitement du black rot. (Rev. de viticult. 1897. No. 189. p. 135—136.)
- Rolloff, A., *Cuscuta monogyna* auf Reben im Kaukasus. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 4. p. 203.)
- Rossel, A., Les parasites végétaux de la vigne provenant de l'introduction de la vigne américaine et les moyens de les combattre. Epidémie de mildew 1894. (Mittteil. d. naturforsch. Gesellsch. in Bern a. d. J. 1895. Bern 1896. p. 38—44.)
- Rose, E., Le Pseudocommis *Vitis Debray*, parasites des plantes marines. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 9. p. 410—411.)
- , Sur la présence du Pseudocommis *Vitis Debray* dans la tige et les feuilles de l'*Elodea canadensis*. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXV. 1897. No. 6. p. 362—363.)
- Rosier, A., Le black rot et ses traitements. (Rev. de viticult. 1897. No. 194. p. 251—252.)
- Salas y Amat, L., La resistencia filoxérica y demás cualidades de las principales vides americanas y vinífero americanos. 4°. 112 p. Málaga 1897. 2,75 Pes.
- Smith, W. G., The diseases of plants. (Gardener's Chronicle. 1897. No. 553. p. 61.)
- v. Tavel, F., Ein parasitisches Vorkommen des *Pyrenomyces Cucurbitaria Berberidis* (Pers.). (Jahresber. d. Zürcher. botan. Gesellsch. 1894/96. p. 7.)
- Stewart, F. C., The downy mildew of the cucumber; what it is and how to prevent it. (New York agricult. exper. stat. 1897. Bullet. 119. p. 154—182. Geneva, N. Y.)
- , Spraying potatoes on Long Island in the season of 1896. (New York agricult. exper. stat. 1897. Bullet. 123. p. 234—259. Geneva, N. Y.)
- v. Tubauf, Ueber die Verbreitung von Pflanzenkrankheiten. (Forst.-naturwissensch. Ztschr. 1897. Heft 8. p. 320—325.)
- Webber, H. J., Sooty mold of the orange and its treatment. (U. S. Departm. of Agric. Division of veget. physiol. and pathol. 1897. Bullet. No. 13.) 8°. 34 p. With 5 plates. Washington 1897.
- , Diseases and insects of Citrus. (Proceed. of the 9. annual. meeting of the Florida stat. horticult. soc. 1896. p. 70—76.)
- , Notes on pineapples and their diseases. (Proceed. of the 9. annual. meeting of the Florida stat. horticult. soc. 1896. p. 92—95.)

- Weber, H., *Carnation rust.* (Florist's exchange. 1897. No. 5. p. 97.)  
 — —, *The cutting bench fungus.* (Florist's exchange. 1897. No. 9. p. 192.)  
 Woronin, M., *Kurze Notiz über Monilia fructigena Pers.* (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 4. p. 196—198.)

### Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

- Malfitano, G., *Sul comportamento dei microrganismi all' azione dei gas compressi.* (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1897. No. 18. p. 545—551.)  
 Ruepp, T., *Ueber den Desinfektionswert des in chemischen Kleiderreinigungsanstalten verwendeten Benzins.* (Krrspdzbl. f. Schweiz. Aerzte. 1897. No. 19. p. 587—591.)  
 Vas, B., *Ueber die mikrobicide Wirkung des Pyrokatechinäthyläthers.* (Pester med.-chir. Presse. 1897. No. 32 ff.)

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.

- Behrens, J., *Untersuchungen über den Wurzelschimmel der Reben.* (Orig.) [Schluß], p. 743.  
 Casagrandi, O., *Ueber die Morphologie der Blastomyceten.* (Orig.) [Schluß], p. 718.  
 Jensen, Hjalmar, *Das Verhältnis der denitrifizierenden Bakterien zu einigen Kohlenstoffverbindungen.* (Orig.) [Schluß], p. 689.  
 Sewerin, S. A., *Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben. III.* (Orig.) [Schluß], p. 706.  
 Stutzer, A., *Bemerkungen zu vorstehender Arbeit über „Das Verhältnis der denitrifizierenden Bakterien zu einigen Kohlenstoff-Verbindungen“.* (Orig.), p. 698.

- Wehmer, C., *Untersuchungen über Kartoffelkrankheiten.* (Orig.), p. 727.  
 Woods, Albert F., *Bacteriosis of Carnations.* (Orig.), p. 722.

### Referate.

- Frank, *Neuere Beobachtungen über die Blattfleckenkrankheit der Rüben (Cercospora beticola).* p. 754.  
 Jensen, Orla, *De vigtigste bakteriologiske og kemiske Kendsgerninger angaaende Ostens Modning, samt et nyt Forsøg paa dette Omraade.* p. 750.  
 Sajó, Carl, *Getreidekörner aussaugende Insekten.* p. 755.

Neue Litteratur, p. 756.

# Verzeichnis der Autoren und ihrer Arbeiten.

## I. Aufzählung der Arbeiten.

- Aderhold*, Die Fusicladien unserer Obstbäume I. 198  
 —, Ueber den Vermehrungspilz, sein Leben und seine Bekämpfung. 437  
 —, Revision der Species *Venturia chlorospora*, *inaequalis* u. *ditricha* aut. 439  
*Aeby*, *Dorsch*, *Matz* u. *Wagner*, Forschungen über den relativen Düngewert u. die Konservierung des Stallstickstoffs. I. 325  
*Ampola* u. *Garino*, Ueber Denitrifikation. (Orig.) 309  
*Artari*, Ueber einen im Saft der Zuckerfabriken in Gemeinschaft mit *Leuconostoc* schädlich auftretenden, den Zucker zu Alkohol u. Säure vergärenden *Saccharomyceten*. 529  
*Babcock* u. *Russell*, Die Wiederherstellung d. Konsistenz in pasteurisierter Milch. 203  
 — —, Unorganized Ferments of Milk: a new Factor in the Ripening of Cheese. (Orig.) 615  
*Bächler*, Beiträge zur Erforschung des Gärungsverlaufs in der Emmenthaler Käsefabrikation. 194  
*Baier*, Die Pilzformen der Milch u. ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozeß. 530  
*Barba* siehe *Kayser*.  
*Barbut*, Ueber eine Bakterienkrankheit der Reben. 328  
*Beck* u. *Schulz*, Ueber die Einwirkung sogen. monochromatischen Lichtes auf die Bakterienentwicklung. 603  
*Becker*, Die Weinhefe in der Weinbereitung. (Orig.) 667  
 —, Erwiderung. 674  
*Behrens*, Die Reinhefe in der Weinbereitung. (Orig.) 354. 415. 486. 671  
 —, Untersuchungen über den Wurzelschimmel der Reben. (Orig.) 584. 639. 743  
*Beijerinck*, Emulsions- und Sedimentfiguren b. bewegl. Bakt. (Orig.) 1. 40  
 —, Weitere Untersuchungen über die *Octosporushefe*. (Orig.) 449. 518  
*Die Bekämpfung der Gelbsucht der Reben auf Kalkböden nach dem Verfahren von Rassiguier.* 540  
*Benecke*, Ueber das *Chinosol*. (Orig.) 65. 114  
 —, Die Bedeutung des Kaliums und des Magnesiums für Entwickel. u. Wachstum des *Aspergillus niger* sowie einiger anderer Pilzformen. 675  
*Berger*, Ueber d. gleichzeitige Auftreten von *Uromyces Betae* u. *Phoma Betae*. 377  
*Berlese*, Verhalten der *Saccharomyceten* an den Weinstöcken. 592  
*Bial*, Ueber den Mechanismus der Gärungen im Magensaft. Zugleich ein Beitrag zur Biologie des Hefepilzes. 191  
*Blum*, Die konservierenden Eigenschaften des Formalin. 378  
*Bendixen*, Die Mikroorganismen im Molkereibetriebe. 321  
*Betting*, Ein neuer Objekthalter für Mikrotome. 201  
*Bokorny*, Vergleich. Studien über die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen u. Infusorien. 203



- Bokorny*, Beeinflussung der Alkoholgärung durch chemische Substanzen. 259
- , Ueber die Kohlenstoffernährung der Sprosshefe. 372
- , Die organische Nahrung der Bakterien u. Hefezellen; Beziehung der Nährkraft zur chemischen Konstitution. 373
- , Versuche über das Verhalten der Spalt- u. Hefepilze gegen Fluorverbindungen. 603
- Boullanger*, Contribution à l'étude de quelqu. levures de bière. 23
- Brixi*, Ueber die Fäulnis der Rebentriebe, durch *Botrytis cinerea* verursacht. (Orig.) 141
- , Una malattia dell' *Apium graveolens* L. (Orig.) 575
- Brown*, Fermentative power. An answer to criticism by M. Duclaux. (Orig.) 33
- Buchner*, Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. 251
- , Alkoholische Gärung ohne Hefezellen II. 527
- , Fortschritte in der Chemie der Gärung. 528
- Burri*, Aromabildende Bakterien im Emmenthaler Käse. (Orig.) 609
- Busse*, Bakteriologische Studien über die Gummosis der Zuckerrüben. 680
- Casagrandi*, Ueber die Morphologie der Blastomyeeten. (Orig.) 663. 634. 718
- Chouard*, Die Reblaus in Bessarabien. 443
- , Die Verwendung d. Calciumcarbid's behufs Bekämpfung der Reblaus. 443
- Cieslar*, Ueber das Auftreten des Hallimasch in Laubholzwaldungen. 440
- Conn*, Butter Aroma. (Orig.) 177
- Conrad*, Bakteriologische u. chemische Studien über Sauerkrautgärung. 324
- Cuboni*, Ueber die durch *Botrytis cinerea* bedingte Fäulnis d. Rebentriebe. 330
- Dammann*, Ein Fall von bitterer Milch u. dessen Beseitigung. 255
- Dehérain*, Ueber die Reduktion der Nitrate in der Ackererde. 592
- Delage*, La structure de protoplasma et les théories sur l'hérédité et les grands problèmes de la biologie générale. 423
- Dietzel*, Versuche über die Konservierung des Stallmistes. 325
- Dorsch* siehe *Aeby*.
- Dufour*, Ueber Mildiol, 539
- Einecke*, Beiträge zur Kenntnis der chem. Zusammensetzung von Säften verschiedener Stachel-, Johannis-, u. Erdbeersorten. 323
- Emmerling*, Schimmelpilzgärung. 322
- Emmerling*, Butylalkoholische Gärung. 322
- Eriksson*, Welche Grasarten können die Berberitze mit Rost anstecken? 157
- , Zur Charakteristik des Weizenbraunrostes. (Orig.) 245
- , Neue Beobachtungen über die Natur u. das Vorkommen des Kronenrostes. (Orig.) 291
- Escombe*, Beitrag zur Chemie der Membranen der Flechten u. Pilze. 195
- Evell*, A form of apparatus and method of manipulation for the preparation of roll cultures of anaërobic organisms. (Orig.) 188
- Fischer*, Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen u. Bakterien. 590
- , Vorlesungen über Bakterien. 677
- , Observations sur les Urédinées. 377
- , Beiträge zur Kenntnis der schweizerischen Rostpilze. 682
- Forti*, Relazione sugli studi zimotechnici. 122
- Frank*, Ueber die Ursachen der Kartoffelfäule. (Orig.) 13. 57.
- , Bericht über Versuche zur Bekämpfung der Herz- u. Trockenfäule der Zuckerrüben im Jahre 1896. 256
- , Eine neue Kartoffelkrankheit? (Orig.) 463
- , Neuere Beobachtungen über die Blattfleckenkrankheit der Rüben. 754
- u. *Sorauer*, Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1895. 156
- Franke* siehe *Pfeiffer*.
- Frankland*, Sea-water microbes in high latitudes. 425
- Freeman*, Pasteurisation der Milch bei niedrigerer Temperatur. 242
- Freudenreich*, Bakteriolog. Untersuchungen über den Kefir. (Orig.) 47. 87. 135
- , Ueber die Erreger der Reifung bei dem Emmenthaler Käse. (Orig.) 231. 349
- u. *Jensen*, Ueber den Einfluß des Naturlabes auf die Reifung des Emmenthaler Käses. (Orig.) 545
- Garino* siehe *Ampola*.
- Goetze* siehe *Pfeiffer*.
- Gouirand* u. *Bergeron*, Versuche über die Behandlung der Anthraknose mit Lösungen von Kupfersulfat, Eisenvitriol u. Schwefelsäure. 693
- Grethe*, Ueber die Keimung der Bakteriensporen. 678
- Grüss*, Ueber Lösung und Bildung der aus Hemicellulose bestehenden Zellwände u. ihre Beziehung zur Gummiosis. 121
- Guiraud*, Der Kampf gegen den Black Rot. 352

- Guozdenovic*, Ueber die Bekämpfung des Heuwurmes. 685
- Harileb* siehe *Stutzer*.
- u. *Stutzer*, Das Vorkommen von *Bacillus pseudanthracis* im Fleischnahrungsmittel. (Orig.) 81. 129. 179.
- —, Bemerkungen zu der Mitteilung von Dr. Rullmann: Ueber ein Nitrosobakterium mit neuen Wuchsformen. (Orig.) 621
- Hehle*, Ueber das Blauwerden der Käse. 25
- Henneberg*, Beiträge zur Kenntnis der Essigbakterien. (Orig.) 223
- Hollrung*, Vorsicht gegenüber dem Auftreten der Fritfliege im Getreide. 197
- , 8. Jahresbericht über die Tätigkeit der Versuchsstation f. Nematodenvergiftung und Pflanzenschutz zu Halle. 535
- Jegunovic*, Zur mechanischen Analyse der Bakterienplatten. (Orig.) 467
- Jensen*, Das Verhältnis der denitrifizierenden Bakterien zu einigen Kohlenstoffverbindungen. (Orig.) 622. 689
- , De vigtigste bakteriologiske og kemiske Kendsgaainger angaaende Ostens Modning, samt et nyt Forøg paa dette Omraade. 750
- Jørgensen*, Ein historisches Supplement zu Behrens' Abhandlung: Die Reihhefe in der Weinbereitung. (Orig.) 662
- Johan-Olsen*, Zur Pleomorphismusfrage. (Orig.) 273
- Karacaiew*, Ein neuer Thermostat ohne Gasbenutzung. 75
- Kassner*, Ueber die alkoholische Gärung der Wachholderbeeren. 25
- Kayser et Barba*, Rapport sur les expériences de vinification faites dans le Gard en 1895. 155
- Kedzior*, Ueber eine thermophile Cladothrix. 154
- Klöcker u. Schiöning*, Que savons-nous de l'origine des Saccharomyces? 193
- Kluge*, Eine prakt. Methode zur Herstellung von Agar f. Kulturen. 201
- Kobert*, Ueber den Kwaß u. dessen Bereitung. 253
- Koch*, Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. IV. 491
- Köbner*, Ueber die Veränderungen des Rohrzuckers im Magendarmkanal. 193
- Köster*, Ueber einen Milchfehler, seine Ursache u. seine Beseitigung. 679
- Lafar*, Technische Mykologie. 22
- Lagerale*, Redogörelse för några undersökningar rörande bakterierna i vatten, luft och jord. 74
- Lindner*, Die Flachsfransenfliege. 683
- Lohmann*, Ueber den Einfluß des intensiven Lichtes auf die Zellteilung bei *Saccharomyces cerevisiae* u. anderen Hefen. 369
- Lyons*, Ueber den Einfluß eines wechselnden Traubenzuckergehaltes im Nährmaterial auf die Zusammensetzung der Bakterien. 22
- Magnus*, Parallelförmigen unseres *Uromyces scutellatus* Lév. in weit entfernten Ländern. 196
- Marschall*, Ueber die Zusammensetzung des Schimmelpilzmycels. 154
- Martiny*, Versuche zur Ergründung der wirksamen Bestandteile der langen Wei. 534
- Maßregeln* gegen „Black Rot“ in Frankreich. 332
- Mattirolo*, Sopra alcune larve micofaghe. 258
- Matz* siehe *Aeby*.
- Miyoshi*, Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. 526
- , Ueber das massenhafte Vorkommen von Eisenbakterien in den Thermen von Ikao. 527
- Mörner*, Ueber ein eigentümliches Nahrungsmittel nebst einigen Beobachtungen über darin angetroffene Fäulnisbasen. 374
- Mohr*, Mitteilungen über die Ursachen von Pflanzenschädigungen durch Insecticide. 27
- Moller*, Ueber die Einwirkung des elektrischen Stromes auf Bakterien. (Orig.) 110
- Nérard*, Ueber die Wirkung von Kupferlösung gegen *Peronospora* und Black Rot. 539
- Nijpels*, Les champignons nuisibles aux plantes cultivées et les moyens de les combattre. 375
- Otto*, Einige Beobachtungen bei der Herstellung von Heidelbeerweinen. 428
- Peglion*, Bacteriosi del gelso. (Orig.) 10. 60
- , Marciume radicale delle piantine di Tabacco causato dalla *Thielavia basicola* Zopf. (Orig.) 580
- , Ueber die Behandlung der Reben behufs Bekämpfung der *Peronospora viticola*. 539
- , Eine neue Krankheit des Hanfes. 599
- , Il Mal dello Sclerozio della *Barbabetola*. (Orig.) 659
- Perrault*, Die Entwicklung des Weißrostes. 601
- Pfeffer*, Ueber die regulatorische Bildung von Diastase. 425

- Pfeiffer, Franke, Goetze u. Thurmann*, Beiträge zur Frage über die bei der Fäulnis stickstoffhaltiger organischer Substanzen eintretenden Umsetzungen. 325
- Prunet*, Les formes de conservation et d'invasion du parasite du black-rot. 437
- , Die verschiedenen Entwicklungsformen des Black-rot vom Herbst bis zum Frühling. 601
- Ráthay*, Ueber den Black Rot. 329
- Ravaz*, Ueber eine Bakterienkrankheit der Reben. 329
- Rodsewitsch*, Ein neuer pigmentbildender Saprophyt. 591
- Rörig*, Die Weidenblattkäfer. 683
- Rullmann*, Ueber ein Nitrosobakterium mit neuen Wuchsformen. (Orig.) 228
- Russell*, Outlines of dairy bacteriology, a concise manual for the use of students in dairying. 321
- siehe *Babcock*.
- and *Weinxirl*, The Rise and Fall of Bacteria in Cheddar Cheese. (Orig.) 456
- Sajó*, Der Spargelrost. 197
- , Die Bekämpfung der Spargelfeinde. 332
- , Die Spargelfliege. 379
- , Die Spargelkäfer. 433
- , Getreidekörner aussaugende Insekten. 755
- Sanguinetti*, Contribut. à l'étude de l'Amylomyces Rouxii de la levure chinoise et des moisissures ferments de l'amidon. 430
- Scanzoni*, Ueber die Resorption des Traubenzuckers im Dünndarm und deren Beeinflussung durch Arzneimittel. 192
- Schiemenz*, Zur Tipulidenfrage. 538
- Schiewek*, Ueber Saké, das Nationalgetränk der Japaner und die bei seiner Bereitung wirksamen Pilze. 431
- Schönning* siehe *Klöcker*.
- Schroeter*, Die Schwebeflora unserer Seen. 675
- Sebelien*, Nogle Gioeringsforsög med Beersaft. 427
- Seifert*, Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Essigsäurebakterien. (Orig.) 337, 385
- Selby*, Investigations of plant diseases in forcing house and garden. 601
- Severin*, Zur Frage über die Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien. (Orig.) 504, 554
- , Die im Mist vorkommenden Bakterien und deren physiol. Rolle bei der Zersetzung desselben. III. (Orig.) 628, 706
- Smith*, Pseudomonas campestris. The cause of a brown rot in cruciferous plants. (Orig.) 284, 408, 478
- Solomin*, Ueber die beim Erhitzen der Milch ausfallenden Eiweißmengen. 195
- Sopitt*, Bemerkungen über Puccinia Digraphidis. 534
- Sorauer*, Feldversuche zwecks Feststellung einer Abhängigkeit der bakteriösen Gummosis der Zuckerrüben von Witterungs- und Bodeneinflüssen. 535
- siehe *Frank*.
- Steuber*, Wirkt die in der Brennereipraxis zur Reinigung der Rohrleitungen verwendete Sodälösung gegenüber Hefe als Desinfektionsmittel? 442
- Stoklasa*, Sind die Enchytraeiden Parasiten der Zuckerrübe? (Orig.) 108
- Stutzer*, Bemerkungen zu vorstehender Arbeit über „Das Verhältnis d. denitrif. Bakt. zu einigen Kohlenstoffverbind.“ 648
- u. *Hartleb*, Der Salpeterpilz. (Orig.) 6, 54, 161, 235, 311, 351
- Suttor*, Erfahrung mit Milchsäurereinkultur. 26
- Teich*, Beitrag zur Kenntnis thermophiler Bakterien. 190
- Thaxter*, Contribution towards a monograph of the Laboulbeniaceae. 597
- Thurmann* siehe *Pfeiffer*.
- Tischutkin*, Ueber Agar-Agarkulturen einiger Algen und Amöben. (Orig.) 183
- Valat*, La chlorose et le traitement Rassicquier en 1895—96. 443
- Vaňha*, Ueber den Parasitismus von Rübennematoden der Gatt. Tylenchus. 441
- Viala*, Ueber das Vorkommen des Black Rot im Kaukasus. 329
- , Ueber die Entwicklung des Black Rot bei der Rebe. 329
- , Die Entwicklung des Weißrostes der Reben. 601
- Vogel*, Reichsanstalt für Bakteriologie und Pflanzenschutz. (Orig.) 260
- Vuillemin*, Association du Chaetophoma oleacina et du Bacillus oleae. 256
- Wagner*, Gloeosporium Myrtilli, ein gefährlicher Feind von Vaccinium Myrtilus. 26
- Wagner* siehe *Aeby*.
- Wahl*, Die Vorteile der Anwendung einer höheren Anstelltemperatur zur Einleitung der Untergärung. 331
- Wehmer*, Kleinere mikologische Mitteilungen. (Orig.) 102, 147
- , Zur Bakteriologie und Chemie der Häringslake. I. (Orig.) 209

*Wehmer*, Einige vergleichende Versuche über das antiseptische Verhalten der Benzoësäure und ihrer 3 isomeren (Mono-)Oxysäuren. 331  
 —, Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. II. 434  
 —, Untersuchungen über Kartoffelkrankheiten. (Orig.) 646. 727  
*Weigmann*, Zum Butteraroma. (Orig.) 497  
*Weinzirl* siehe *Russell*.  
*Will*, Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. (Orig.) 17

*Willot*, Destruction de l'Heterodera Schachtii. 443  
*Wittlin*, Bakteriolog. Untersuchungen der Mineralquellen der Schweiz. II. (Orig.) 400  
*Woods*, Bacteriosis of Carnations. (Orig.) 722  
*Wortmann*, Säureabnahme im Wein. 96  
*Zeidler*, Bemerkung zu der Arbeit von Henneberg: Beiträge zur Kenntnis der Essigbakterien. (Orig.) 399  
*Zukal*, Myxobotrys variabilis als Repräsentant einer neuen Myxomycetenordnung. 154

## II. Sachregister und Pflanzennamen.

Ackererde, Reduktion der Nitrate. 592  
 Actinomyces. 274  
 — aureum. 276  
 — bovis. 276  
 Aecidium Asperifolii. 258  
 — Clematidis. 258  
 Aelia pallida auf Roggenkörnern. 755  
 Agar, Herstellung für Kulturen. 201  
 Agaragarkultur von Algen u. Amöben. 183  
 Agaricus campestris, Vorkommen auf den Nordseeinseln. 436  
 — melleus. 440  
 — velutipes. 440  
 Agromyza maura. 332. 379  
 Algen, Agaragarkulturen. 184  
 Alkoholgärung, Beeinflussung durch chemische Substanzen. 259  
 Alkoholfäulen, Proteolytische Erscheinungen. 521  
 Alternaria Solani Sor. 404. 602  
 — brassicae. 602  
 Amöben, Agaragarkulturen. 187  
 Amylomyces Rouxii, Gärung durch. 430  
 Anaerobe Mistbakterien, Kultur. 708  
 Anguillula devastatrix. 441  
 Anthraknose, Bekämpfung. 604  
 Aphis. 537  
 — brassicae. 536  
 Apium graveolens. 575  
 Aposphaeria fibricola. 256  
 Aromabacillus des Emmenthaler Käses. 611  
 — —, Anaërobie. 614  
 — —, Kulturen. 612. 613  
 — —, Gasbildung. 614  
 — —, Morphologie. 611  
 — —, Sporenbildung. 614  
 — —, Temperatur. 613  
 Aspergillus-Arten, Temperatureinfluß auf. 106. 147  
 Aspergillus niger. 104. 435. 436. 675  
 — —, Diastase bei. 425  
 — —, Oxalsäuregärung. 102

Aspergillus niger, Zusammensetzung des Mycel. 155  
 — Oryzae. 104  
 — —, Gärung durch. 430  
 — subfuscus. 276  
 — Wentii Wehm. 105  
 Bacillus. 233  
 — acidificans longissimus. 26  
 — acidi lactici. 52  
 — anthracis. 678  
 — Betae Busse. 682  
 — butylicus. 322  
 — casei diatrypeticus. 194  
 — caucasicus Freudn. 54. 135  
 — coccineus Catiano. 191  
 — coli. 309  
 — Cubonianus. 61  
 — cyanogenus. 2  
 — denitrificans I u. II. 309  
 — — agilis. 309  
 — erythrosporus. 278  
 — fluorescens liquefaciens. 2. 401  
 — — non liquefaciens. 2  
 — megatherium. 591. 678  
 — mycoidis. 279. 678  
 — oedematis maligni. 232  
 — Oleae. 256  
 — perlibratus. 2  
 — pseudanthracis, anaërobe Züchtung. 84  
 — —, Biologie und Morphologie. 179  
 — — im Fleischfuttermehl. 81. 129. 179  
 — —, Impfungen. 86. 129  
 — punctatus. 2  
 — pyocyaneus. 2. 510. 629  
 — —, Kultur. 517. 554  
 — —, Verhalten im Mist. 711  
 — rubiginosus Catiano. 191  
 — solanacearum. 602  
 — subtilis. 49. 509  
 — tracheiphilus. 602  
 Bacteriosi del gelso. 10. 60  
 Bacterium aceti. 223. 398  
 — acetosum Henneb. 224

- Bacterium Apii Brizi.** 579  
 — *brassicae acidae.* 325  
 — *Kützingianum.* 223  
 — —, *Einwirkung auf Aethylalkohol.* 345  
 — —, — — *Isobutylalkohol.* 348  
 — —, — — *Isopyrolalkohol.* 348  
 — —, — — *Methylalkohol.* 345  
 — —, — — *normalen Butylalkohol.* 347  
 — *lactis aërogenes.* 548  
 — *Megatherium, Diastase bei.* 425  
 — *Mori.* 10  
 — *oxydans Henneb.* 224. 399  
 — *Pasteurianum.* 223  
 — —, *Einwirkung auf Aethylalkohol.* 345  
 — —, — — *Isobutylalkohol.* 348. 385  
 — —, — — *Isopyrolalkohol.* 348  
 — —, — — *Methylalkohol.* 345  
 — —, — — *normalen Butylalkohol.* 347  
 — *Termo.* 2. 40  
 — *xylinum Brown.* 398  
 — *Zopfii.* 2  
**Bakterien, Aromabildende.** 609  
 —, *Bau.* 590  
 —, *Kultur von nitratesetzenden.* 508  
 — *der Kesselmilch und des Labes.* 547  
 — — —, *bei Erwärmung.* 549  
 —, *Einwirkung des elektr. Stromes.* 110  
 —, *Entwicklung bei monochromat.* 603  
 — *Licht.* 603  
 —, *Fadenbildung.* 191  
 —, *organische Nahrung.* 373  
 —, *Reinkulturen der denitrifizierenden.* 623  
 —, *Rohkulturen aus Erde von denitrifizierenden.* 689  
 —, — *aus Mist — —.* 692  
 —, *thermophile.* 190  
 —, *Verhalten gegen Fluorverbindungen.* 603  
 —, *Zerstörung des Salpeters durch.* 698  
**Bakterienfäule.** 57  
**Bakteriengehalt im Emmenthaler Käse.** 551  
**Bakterienkrankheit der Reben.** 328. 329  
**Bakterienplatten, mechanische Analyse.** 467  
**Bakteriensporen, Färbung.** 677  
**Bakterienzählungen in Fluß, Luft und Boden.** 74  
**Bakteriologie, Lehrbuch.** 321  
**Bakteriosis der Nelken.** 722  
 — —, *Beziehungen zu Insekten.* 722  
 — —, *Ursachen und Bekämpfung.* 726  
**Benzoësäure, Antiseptisches Verhalten.** 331  
**Berberis, Ansteckung durch Rost.** 157  
**Bierhefen, Gärdauer.** 24  
 —, *Stickstoffmengen.* 24  
 —, *Temperaturwirkungen.* 23  
**Biologie, Probleme der allgemeinen.** 423  
**Black-Rot.** 329  
 —, *Bekämpfung.* 332. 437  
 —, *Entwicklungsformen.* 601  
 —, *Ueberwinterung.* 437  
 —, *Wirkung der Kupferlösung.* 539  
**Blastomyceten, Anatomie der Membran.** 563  
 —, *Chemische Natur der Körnchen.* 718  
 —, *Kern.* 720  
 —, *Mikrochemie der Membran.* 566  
**Blattfleckkrankheit der Rüben.** 754  
 — —, *Ueberwinterung des Pilzes.* 755  
 — —, *Bekämpfung.* 755  
**Botrytis cinerea.** 434. 435  
 — —, *auf Rebentrieben.* 330  
 — —, *Ursache der Fäulnis der Rebentriebe.* 141  
 — *vulgaris.* 602  
**Brassica campestris.** 285  
**Bremia lactucae.** 602  
**Brown rot.** 284  
**Buntwerden der Kartoffeln.** 58  
**Butteraroma.** 177. 497  
**Carlia Bidwellii.** 437. 601  
**Cephus pygmaeus.** 536  
**Cercospora beticola.** 754  
 — *persica.* 537  
**Cetraria islandica, Membran.** 196  
**Ceutorhynchus assimilis.** 536  
**Chaetophoma oleacina.** 256  
**Champignon, künstliche Kultur.** 151  
 —, *siehe Agaricus campestris.*  
**Charrinia diplodiella, Entwicklung.** 601  
**Cheddar Käse, Bakteriologische Untersuchung.** 457  
 — —, *Behandlung.* 465  
 — —, *Periodicität des Bakteriengehaltes.* 461  
 — —, *Quantität der Bakterien.* 459  
 — —, *Vorhandene Bakterien.* 458  
**Chemie der Membranen der Pilze und Flechten.** 195  
**Chinosol, Litteraturverzeichnis.** 65  
 —, *Wirkung auf Bakterien.* 70. 114  
**Chitin in Pilzmembranen.** 195  
**Chlamydomucor Oryzae.** 105  
**Chlorops taeniopus.** 536  
**Chromatium Weissii, Reizbarkeit.** 526  
**Chrysomela vulgatissima.** 683  
**Cichorien, Krankheiten.** 536  
**Citromyces Pfefferianus.** 436  
**Cladosporium cucumerinum.** 602  
 — *fulvum.* 602  
**Cladotrix, eine thermophile.** 154  
**Claviceps purpurea.** 537  
 — —, *Membran des Sclerotiums.* 196  
**Clostridium.** 278  
 — *foetidum lactis.* 610  
**Coelastrum cambricum Arch. var. elegans Schroet.** 675  
**Corvus frugilegus, Mageninhalt.** 537

- Crioceris asparagi* L. 433  
 — *duodecimpunctata* L. 433  
 — *quatuordecimpunctata* Scop. 433  
 — *quinquepunctata* Scop. 433  
*Cronartium asclepiadeum* = *C. flaccidum*. 377  
*Cyanophyceen*, Bau. 590  
*Daedalea quercina*. 152  
*Dematium*. 593  
 — *casei*. 280  
*Dematophora necatrix*. 584. 639  
 Denitrifizierende Bakterien, Reinkulturen. 623  
 — —, Zerstörung des Salpeters. 698  
 — —, Zusammenfassung. 698  
 Denitrifikation. 309  
 Diastase, regulatorische Bildung. 425  
 Digestion der Milch durch chemische Mittel. 616  
*Diphtheriomyces*. 274  
*Diplococcus*. 61  
*Diplosis*, Larven. 258  
*Dispora caucasica*. 49  
*Dorylaimusnematoden*. 441  
 Early Potato Blight. 403  
*Eccoptogaster multistriatus*. 537  
 Eisenbakterien. 527  
 Eisenfleckigkeit der Kartoffeln. 58  
 Eisenverbindungen für Pilze. 436  
 Eisenvitriol bei Reben. 443  
 Eiweiß, Gerinnung beim Erhitzen der Milch. 195  
 Emmenthaler Käse, Gärungsverlauf. 194  
 — —, Reifung. 231. 349  
 Emulsionsfiguren, Veränderung durch Chemotaxis. 45  
 — — — Oeltropfen. 46  
 — — — Strömungen. 43  
 — — — Verdünnung. 44  
 Emulsions- und Sedimentfiguren bei bewegl. Bakterien. 1. 40  
*Enchytraeiden*. 108  
*Endomyces*. 276  
*Erysiphe cichoracearum*. 602  
*Essigbakterien*. 223. 399  
*Essigsäurebakterien*. 337  
 —, Einwirkung auf Aethylenglykol. 386  
 — — — Essigsäure. 394  
 — — — Fettsäuren. 394  
 — — — Glycerin. 387  
 — — — Glycose. 391  
 — — — Lävulose. 394  
 — — — Mannit. 389  
 — — — normale Buttersäure. 396  
 — — — Propionsäure. 394  
 — — — Sorbit und Dulcit. 391  
 —, historische Uebersicht. 338  
*Eumerus lunulatus*. 536  
*Eumolpus vitis*. 537  
*Eurygaster maura* auf Roggenkörnern. 755  
*Evernia prunastri*, Membran. 196  
*Exoascus deformans*. 537  
 Fäulnis stickstoffhalt. organ. Substanzen. 325  
*Favus*. 276  
 Fermentative power. 33  
*Flachsfransenfliege*. 683  
*Flammula flavida*. 152  
 Flugbrand. 537  
 Formalin, konservierende Eigenschaften. 378  
 Forstgewächse, Krankheiten. 537  
 Fritfliege im Getreide. 197  
 Fruchtfäule. 434  
 Fumarsäure. 435  
*Fusariumfäule der Kartoffeln*. 727  
 — —, Impfungen mit *Fusarium moschatum* und *Spicaria solani*. 730—739  
 — —, Mikroskopisches Bild. 734  
 — —, Uebertragungen. 728  
 — —, Zusammenstellung der Resultate. 736  
 — — — — Versuche. 737  
*Fusarium Solani*. 727  
 Fusicladien der Obstbäume. 198  
*Fusicladium*. 439  
 — *Betulae*. 439  
 — *dendriticum*. 439  
 — *Fraxini Aderh.* 439  
 — *pirinum*. 439  
 — *ramulosum*. 439  
 — *tremulae*. 439  
*Galeruca capreae*. 683  
 Gasgärung im Magensaft. 191  
 Gärfische, Chemie. 374  
 Gärung, alkoholische ohne Hefezellen. 527  
 —, Butylalkoholische. 322  
 — der Stärke durch Hefe. 430  
 Gärung des Käses, Analysen verschiedenen behandelter Käse. 753  
 — —, Bakteriologisches. 750  
 — —, Behandlung mit Bauchspeichellösung. 751  
 — des Sauerkohls. 324  
 — durch Schimmelpilze. 322  
 — ohne Hefezellen. 251  
 Gärungschemie, Geschichte. 528  
 Gärungs-Organismen, Jahresbericht. 491  
 Gärungsversuche mit Johannisbeersaft. 427  
 Gelbsucht der Rüben, Bekämpfung. 540  
 Gerstendiastase. 427  
 Giftwirkung verschied. chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien. 203  
*Gloeosporium*. 537  
 — *Myrtilli Allesch.* 26  
 — *phomoides*. 602  
 Granula der Blastomyceten, mikrochemische Charaktere. 634  
 — —, morphologische Charaktere. 636  
 Gummosis der Zuckerrüben. 679  
 — — Abhängigkeit von äusseren Einflüssen. 535

- Gummosis der Zuckerrüben, Kultur der Bakterien. 680  
 Guignardia Bidwellii. 329. 437. 601  
 Häringslake, Bakteriologie u. Chemie. 209  
 —, Kochsalzgehalt. 213  
 Halitaca nemorum. 536  
 — oleracea. 536  
 Hallimasch in Laubwaldungen. 440  
 Halmfrüchte, Krankheiten. 536  
 Hanf, Bakteriosis des Stengels. 599  
 Hefe im Saft der Zuckerfabriken. 529  
 —, Lebensdauer der getrockneten. 17  
 Hefen, Uebertragung durch Insekten. 594  
 —, Vorkommen bei Insekten. 594  
 —, — in der Natur. 592  
 Hefepilze, Verhalten gegen Fluorverbindungen. 603  
 Hefezellen, organische Nahrung. 373  
 Heidelbeerwein, chem. Untersuchung. 428  
 —, Gärung. 429  
 Hemicellulose, Beziehung zur Gummosis. 121  
 Herpes. 276  
 Heterodera Schachtii. 537  
 — —, Bekämpfung. 443  
 Heterosporium echinulatum. 602  
 Heubacillus. 678  
 Heuwurm, Bekämpfung. 685  
 Hydnum Schiedermayeri. 537  
 Hyponomeuta. 537  
 Jassus sexnotatus. 537  
 Käse, Blauwerden. 25  
 Käserreifung, Beziehung zur Pilzflora der Milch. 533  
 —, Theorien der. 619  
 Kalium für Pilzkulturen. 675  
 Kartoffelfäule, Ursachen. 13. 57  
 Kartoffelkrankheit durch Macrosporium. 403  
 Kartoffeln, Krankheiten. 535  
 Kartoffelschorf, Bekämpfung. 537  
 Kefir, bakteriologische Untersuchungen. 47. 87. 135  
 Keimgehalt des Seewassers. 425  
 Kohl, Krankheiten. 536  
 Krankheiten der Feld- und Industriepflanzen. 375  
 — Futterpflanzen. 375  
 — Gartengewächse. 376  
 — Küchengewächse. 376  
 — Obstbäume. 376  
 — des Getreides. 375  
 — — Salates. 602  
 Kronenrost. 291  
 Kwaß, Bereitung. 253  
 —, chemische Zusammensetzung. 254  
 —, Hefe im. 255  
 Laboulbeniaceae, Gattungsübersicht. 598  
 —, Geographische Verteilung. 598  
 —, Monographie. 597  
 Laboulbeniaceae, Wirte. 598  
 Lange Wei. 534  
 Larven, mycophaga. 258  
 Leguminosen, Krankheiten. 537  
 Lein, Unterdrückung der Samenbildung. 683  
 Lemna asparagi. 536  
 — 12-punctata. 536  
 Leptothrix ochracea. 529  
 Lophyrus pini. 537  
 Macrosporium Solani. 403  
 Magnesium für Pilzkulturen. 676  
 Malleinsäure. 435  
 Marsonia perforans Ell. et Ev. 602  
 Meligethes aeneus. 537  
 Micrococcus. 232. 548  
 — roseus. 591  
 — tetragenus. 591  
 Mikroorganismen im Molkereibetrieb. 321  
 Milch, bittere. 255  
 Milchfehler, durch Bacillen erzeugt. 679  
 Milchfermente, Isolierung. 618  
 —, unorganisierte. 615  
 Milchsäurereinkultur. 26  
 Mildiol. 539  
 Mistbakterien. 628  
 —, Anaerobe Arten, Kultur. 708  
 Monascus purpureus. 105  
 Monilia. 276  
 — bacilloides. 278  
 Mormidea fascispina auf Haferkörnern. 755  
 Most, Sterilisierung durch Centrifugieren. 123  
 Mucor. 593  
 — alternans, Gärung durch. 430  
 — piriformis. 434. 435  
 — racemosus. 434. 435  
 — stolonifer. 434. 435  
 — —, Zusammensetzung des Mycel. 155  
 Mycelpilzsporen, Einfluß des Alters und der Temperatur auf Entwicklung. 104  
 Mycoderma cerevisiae. 371. 548  
 Mykologie, Technische. 22  
 Myxobacteriaceen. 154  
 Myxobotrya variabilis Zuk. 154  
 Naturlab, Herstellung. 546  
 —, Wirkung auf Reifung des Emmenthaler Käses. 545  
 Natriumsalze, Nährfähigkeit für Pilze. 435  
 Nematoden(Wurm)-Fäule. 58  
 Nitratersetzende Bakterien, Verzweigung. 512  
 Nitrosobacterium formae novae. 229. 621  
 Objecthalter für Microtome. 201  
 Obstfäule durch Fadenpilze. 434  
 Obstgewächse, Krankheiten. 537  
 Obstsäfte, Zusammensetzung. 323  
 Ocnaria dispar. 537  
 Oidium fructigenum. 537  
 — lactis. 280. 322

- Oospora* Guignardi. 708  
 — bovis. 276  
*Otiorynchus ligustici*. 537  
 Pasteurisation der Milch, bei niederer  
 Temperatur. 202  
 — —, Wiederherstellung der Kon-  
 sistenz. 203  
*Peltigera canina*, Membran. 196  
*Penicillium glaucum*. 322. 434. 435. 536  
 — —, Diastase bei. 425  
 — —, Zusammensetzung des Mycel. 155  
 — italicum. 434  
 — luteum. 436  
 — —, Coremienbildung. 149  
 — olivaceum. 434. 435  
*Peridermium pini corticola*, Kulturver-  
 suche. 377  
*Peronospora effusa*. 536  
 — viticola. 537  
 — —, Bekämpfung. 539  
 — —, Wirkung der Kupferlösung. 539  
 Pflanzenbeschädigungen durch Insecti-  
 cide. 27  
 Pflanzenschutz, Jahresbericht 1895. 156  
*Phlyctidium tabellariae* Schroet. 675  
*Pholiota squarrosa*. 152  
*Phoma Betae*. 257. 377  
*Photobacterium Indicum*. 2  
*Phragmidium subcorticium*. 258  
*Phytophthora*. 646  
 — —, Infektionsversuche bei Kartoffeln. 647  
 — infestans. 535  
*Phytophthorafäule*. 14  
 Phytoplankton des Süßwassers. 675  
*Phytopus*. 537  
 Pilze in Lösungen freier organ. Säuren.  
 435  
 Pilzflora der Milch. 530  
 — —, gemischte Sterilisation. 531  
 Plasmastruktur. 423  
*Plasmodiophora brassicae*. 536  
*Plasmopara cubensis*. 602  
*Platyparaea poeciloptera*. 379  
*Pleomorphismus*. 273  
*Pleurotus ostreatus*. 152  
*Polyporus frondosus*. 152  
 — sulfureus. 152  
*Polystigma rubrum*. 537  
*Psalliotia campestris*. 151  
*Pseudocommis* auf Spargel. 434  
*Pseudo-Dematophora*. 589. 640  
 — —, Lösung von Cellulose. 640  
*Pseudomonas campestris*. 284. 408. 478  
 — —, Kulturbedingungen. 479  
 — —, Impfungen durch *Agriolimnax*  
*agrestis*. 409  
*Puccinia coronata*. 291  
 — —, *Aecidium* auf *Rhamnus cathartica*.  
 291  
 — —, — — — *dahurica*. 292  
 — —, — — — *frangula*. 292  
 — —, — — — unbekannt. 292  
*Puccinia coronata*, Infektionsversuche.  
 293. 295. 296. 298  
 — —, Uebersicht der Formen. 302  
 — coronifera, Infektionsversuche. 294  
 — —, Uebersicht der Formen. 302  
 — Digraphidis. 534  
 — dispersa. 245  
 — *Epilobii-Fleischeri* E. Fisch. 683  
 — *frigidae* E. Fisch. 683  
 — glumarum. 245  
 Reblaus, Bekämpfung. 443  
 Reichsanstalt für Bakteriologie und  
 Pflanzenschutz. 260  
 Reinhefe beim Wein. 354. 486  
*Rhizoctonia* *fäule*. 15  
*Rhizoctonia solani*. 536  
 — violacea. 659  
*Rhizomorpha subcorticalis*. 441  
 Rohrzucker, Veränderung im Magen-  
 darmkanal. 193  
 Rollkulturen für anaerobe Organismen.  
 188  
 Rost auf *Carex*, Kulturversuche. 377  
 Rübenennematoden. 441  
*Saccharomyces*. 52. 325  
 — —, Einfluß des Lichtes auf Zellteilung.  
 369  
 — —, Ursprung. 193  
 — apiculatus. 593  
 — —, Schädlichkeit bei Weingärung.  
 359  
 — cerevisiae. 280. 369  
 — ellipsoideus. 593  
 — Kefir. 51. 88  
 — Pasteurianus. 593  
 — — I. 371  
 — Zopfii Art. 529  
*Sahlweidenblattkäfer*. 684  
*Sakéhefe*, Abstammung. 431  
*Saké*, Gärung. 432  
*Salpeterpilz*. 5. 54. 161. 311. 351  
 — —, Beziehungen zu Nitrifikationsmi-  
 krogen. 238  
 — —, Chlamydosporen und Gemmen. 173  
 — —, endogene Sporenbildung. 173  
 — —, Formen mit Nitrat- und Nitritbil-  
 dung. 319  
 — —, Fortpflanzung. 169  
 — —, Gelatinekolonien. 236  
 — —, Kokken. 238  
 — —, Megalosporen. 237  
 — —, Mikrokonidien. 171  
 — —, Morphologie. 161  
 — —, Nitraterzeugung aus Nitrit. 351  
 — —, Perithezien. 172  
 — —, Pleomorphismus. 241  
 — —, Rückbildung der kleinsten Orga-  
 nismen zum Fadenpilz. 241  
 — —, Rückbildung in einen salpeterbil-  
 denden Organismus. 351  
 — —, Sporangien. 172  
 — —, Sporenschläuche. 238



Salpeterpilz, Stäbchen.	238	Streptothrix aquatilis.	279
—, Thallus.	163	— Chondri.	278
—, Verbreiterung der Pilzfäden.	173	— gelatinosus.	279
—, Verlauf der Salpeterbildung.	352	— Lemani.	279
—, Vorkommen in tropischen Böden.	320	Tanymecus palliatus.	536
—, Wirkung der Kohlenstoffverbindungen.	243	Thermalquellen von Ragaz-Pfäfers.	401
—, Wirkung der Stickstoffverbindungen.	314	Thermobacterium aceti.	399
—, Wirkung des freien Sauerstoffes.	313	Thermostat ohne Gasbenutzung.	75
—, Zoogloea ramigera.	235	Thielavia basicola an Tabak.	580
—, Züchtung bakterienähnlicher Gebilde.	241	Thioderma rubrum Miy.	527
Salpetersaure Salze, Zersetzung durch Bakterien.	504. 554	Thiosphaera gelatinosa Miy.	527
Salzhefe.	209	Thiosphaerion violaceum Miy.	527
—, Einfluß der Salzkonzentration.	214	Thrips linaria Uzel.	683
—, Herkunft.	218	— lini Ladureau.	683
Säureabnahme im Wein.	96	Tilletia caries.	537
Schizomycetengärungen.	22	— levis.	591
Schizoneura lanigera.	537	Tipuliden, Bekämpfung.	538
Schizosaccharomyces.	278	Torula.	371
— asporus.	449	Torulopsis.	593
— octosporus.	449	Trauben Zucker, Resorption im Dünndarm.	192
— —, Asporogene Rasse.	455. 518	Trauben Zuckergehalt, Einfluß auf die Zusammensetzung der Bakterien.	22
— —, Isolierung.	453	Trockenfäule der Kartoffeln.	727
— —, Proteolytische Erscheinungen.	521	Tuberculomyces.	274
— —, Verhalten gegen Hitze.	453	Tylenchus devastatrix.	537
— —, Vorkommen in der Natur.	451	Tylenchus scadens.	441
— pombe.	449	Tyrophrix.	231
Schleimpilze auf Spargel.	434	— tenuis.	280
Schmarotzerpilze, Bekämpfung.	375	Untergärung, Anwendung einer höheren Anstelltemperatur.	331
Schoenleinium.	276	Uredo coronata, Infektionsversuche.	299. 300
Schwarzrost auf Gramineen.	157	Urocystis occulta.	537
Schwefelbakterien.	526	Uromyces Betae.	377
Schwefelrasenbildung.	526	— Dietelianus E. Fisch.	682
Sclerotienkrankheit der Runkelrübe.	659	— scutellatus, Parallelförmigen.	196
Septogloeum Mori.	10	Venturia chlorospora.	199. 439
Septoria.	602	— ditricha.	200. 439
— dianthi.	602	— Fraxini Aderh.	439
— Lycopersici.	602	— inaequalis.	439
Sitones lineatus.	537	— pirina.	200. 439
Sodalösung, Verhalten zu Hefe.	442	— tremulae Aderh.	439
Spargel, Krankheiten.	536	Venturiaarten, Revision der	439
Spargelfeinde, Bekämpfung.	332	Vererbungstheorie.	423
Spargelfliege.	379	Vermehrungsschimmel, Kultur.	438
Spargelkäfer.	433	—, Sclerotien.	438
Spargelrost.	197	Verticillium glaucum.	436
Sphaeceloma ampelinum.	537. 603	Verzweigung von nitratzersetzenden Bakterien.	512
Sphaerotheca castagnei.	536	Vibrio denitrificans Sew.	517
Spinat, Krankheiten.	536	— —, Verzweigung.	512
Sporidesimum exitiosum.	536. 404	Vitis rotundifolia, Immunität gegen Black Rot.	329
Sproßhefe, Kohlenstoffernährung.	372	Vorlesungen über Bakterien.	677
Stallmist, Behandlung.	325. 701	Wachholderbeeren, alkoholische Gärung.	25
Stallmiststickstoff, Konservierung und Düngewert.	325	Wallemia ichthyophaga.	278
Strachia oleracea.	536	Weidenblattkäfer.	684
Streptococcus a u. b im Kefir.	90	Weinhefen, Analysen der vergorenen Weine.	668
— bombycis.	10	—, Differentialcharaktere.	124
— Pasteurianus.	61		
Streptothrix.	277		
— aus Mist, Kulturen.	629. 706		

Weinhefen, Erwiderung auf Behrens.	674	Wurzelschimmel der Reben.	584
—, Essigsäurebildung durch.	672	— —, Behandlung mit Fungiciden.	743
—, Gärungsversuche.	155	— —, Isolierung.	587
—, Geschichtliches über.	662	Zabrus gibbus.	536
—, Reinhefe.	415	Zuckerrüben, Herz- und Trockenfäule.	256
Weizenbraunrost.	245	—, Krankheiten.	535
Wrucke, Krankheiten.	536		

### III. Neue Litteratur.

28. 76. 124. 157. 205. 269. 333. 380. 444. 492. 540. 604. 685. 756.

### IV. Abgebildete Arten.

|   |     |                                      |             |
|---|-----|--------------------------------------|-------------|
| Aspergillusarten, vergleich. Kulturen.  |     | Penicillium luteum, Coremien.        | Taf. II, 2. |
| Taf. II, 3—14.                          |     | Pleurotus ostreatus.                 | Taf. II, 1. |
| Bacillus erythrosporus, Sporen, Taf. V, |     | Pseudomonas campestris, Habitus der  |             |
| 15.                                     |     | Krankheit und Kultur.                | Taf. VI.    |
| — mycoides. Taf. V, 14.                 |     | Rollkultur, Apparat für.             | 189         |
| Bacterium Termo, Sedimentfiguren 4,     |     | Salzhefe.                            | Taf. III.   |
| Taf. I.                                 |     | Schizosaccharomyces octosporus, Taf. |             |
| Bacteriosis der Nelken. Taf. IX, 725.   |     | VII, VIII.                           |             |
| Braunrost, Habitus.                     | 246 | Schoenleinium Trichophyton. Taf. IV, |             |
| Dematium casei. Taf. IV, 7—12, Taf. V,  |     | 1—6.                                 |             |
| 13.                                     |     | Streptothrix.                        | 632         |
| Fusariumfäule der Kartoffeln, Habitus   |     | — Chondri. Taf. V, 18—21.            |             |
| und mikroskopisches Bild. Taf. X, XI.   |     | — spirilloides. Taf. V, 16, 17.      |             |
| Gelbrost, Habitus.                      | 246 | Vibrio denitrificans, Verzweigung.   |             |
| Kefir, Körner und Pilze.                | 50  |                                      | 513, 514    |
| Nitrosobacterium formae novae.          | 229 |                                      |             |











st

FOR REFERENCE

NOT TO BE TAKEN FROM THE ROOM

SO  
DAN

CAT. NO. 22 012

PRINTED  
IN  
U.S.A.



